

17.07.03

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

REC'D 05 SEP 2003

WIPO

PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 2 年 7 月 1 8 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 2 - 2 0 9 3 2 0
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 2 - 2 0 9 3 2 0]

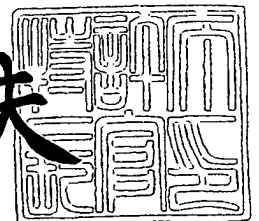
出 願 人 タカラバイオ株式会社
Applicant(s):

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 3 年 8 月 2 1 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願

【整理番号】 T-1777

【提出日】 平成14年 7月18日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A61K 31/00
A61K 31/33
A23L 1/03
A23K 1/00

【発明者】

【住所又は居所】 滋賀県大津市瀬田三丁目 4 番 1 号 タカラバイオ株式会
社内

【氏名】 大野木 宏

【発明者】

【住所又は居所】 滋賀県大津市瀬田三丁目 4 番 1 号 タカラバイオ株式会
社内

【氏名】 杉山 勝美

【発明者】

【住所又は居所】 滋賀県大津市瀬田三丁目 4 番 1 号 タカラバイオ株式会
社内

【氏名】 佐川 裕章

【発明者】

【住所又は居所】 滋賀県大津市瀬田三丁目 4 番 1 号 タカラバイオ株式会
社内

【氏名】 加藤 郁之進

【特許出願人】

【識別番号】 302019245

【氏名又は名称】 タカラバイオ株式会社

【代表者】 加藤 郁之進

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 173212

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

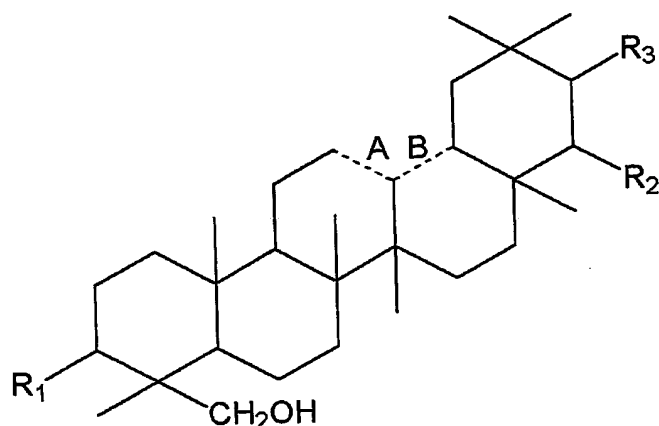
【書類名】 明細書

【発明の名称】 治療剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 下記一般式（化 1）で表される化合物。

【化 1】



（式中、点線で示した結合子のうち A が二重結合を示し、B が単結合を示す場合、 R_1 は $-O-GlcUA-Gal-Glc$ を示し、 R_2 は $-O-Ara-2-AcXyl$ 、 $-O-Ara-3-AcXyl$ 、 $-O-Ara-4-AcXyl$ 、 $-O-Ara-2,3-AcXyl$ 、 $-O-Ara-2,4-AcXyl$ 、 $-O-Ara-3,4-AcXyl$ 、または $-O-Ara-3,4,6-AcGlc$ を示し、かつ R_3 は $-OH$ を示す。また A が単結合を示し、B が二重結合を示す場合、 R_1 は $-OH$ を示し、 R_2 は $-OH$ を示し、かつ R_3 は $-H$ を示す。なお、 $GlcUA$ はグルクロン酸、 Gal はガラクトース、 Glc はグルコース、 Ara はアラニン、 $AcXyl$ はアセチル化されたキシロース、 $AcGlc$ はアセチル化されたグルコースを意味する。）

【請求項 2】 請求項 1 記載の化合物及び／又はその塩を有効成分として含有することを特徴とする当該化合物に感受性を示す疾患の治療剤または予防剤。

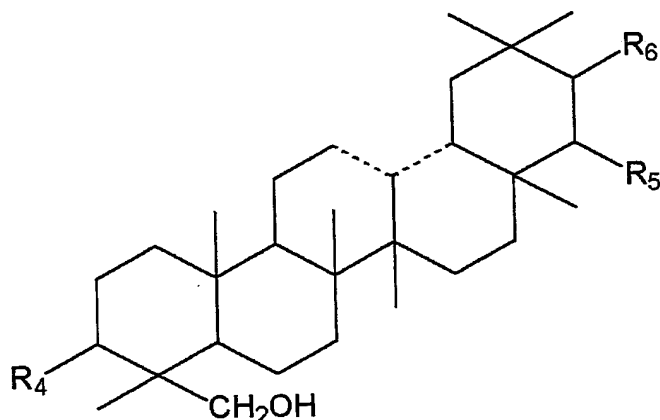
【請求項 3】 請求項 1 記載の化合物及び／又はその塩を有効成分として含有することを特徴とする神経成長因子産生増強剤。

【請求項 4】 請求項 1 記載の化合物及び／又はその塩を有効成分として含有することを特徴とする神経成長因子産生増強用食品、飲料又は飼料。

【請求項 5】 ソヤサポニン類化合物、ソヤサポゲニン類化合物及び薬理的に許容されるその塩からなる群より選択される化合物を有効成分として含有することを特徴とする、治療又は予防に神経成長因子産生増強を要する疾患の治療剤または予防剤。

【請求項 6】 ソヤサポニン類化合物及びソヤサポゲニン類化合物が下記一般式（化 2）で表わされるソヤサポニン類化合物及びソヤサポゲニン類化合物である請求項 5 記載の治療剤または予防剤。

【化 2】



（式中、点線で示した結合子は単結合もしくは二重結合を示し、 R_4 は $-OH$ もしくは $-O-$ 糖残基を示し、 R_5 は $-OH$ 、 $=O$ もしくは $-O-$ 糖残基を示し、 R_6 は $-OH$ もしくは $-H$ を示す。）

【請求項 7】 ソヤサポニン類化合物、ソヤサポゲニン類化合物及び薬理的に許容されるその塩からなる群より選択される化合物を有効成分として含有することを特徴とする神経成長因子産生増強剤。

【請求項 8】 ソヤサポニン類化合物及びソヤサポゲニン類化合物が上記一般式（化 2）で表わされるソヤサポニン類化合物及びソヤサポゲニン類化合物である請求項 7 記載の神経成長因子産生増強剤。

【請求項 9】 ソヤサポニン類化合物、ソヤサポゲニン類化合物及び薬理的に許容されるその塩からなる群より選択される化合物を有効成分として含有することを特徴とする神経成長因子産生増強用食品、飲料又は飼料。

【請求項 10】 ソヤサポニン類化合物及びソヤサポゲニン類化合物が上記一般式（化 2）で表わされるソヤサポニン類化合物及びソヤサポゲニン類化合物

である請求項 9 記載の神経成長因子産生増強用食品、飲料又は飼料。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は食用植物由来の化合物の生理作用を利用した医薬、飲食品等に関する

。

【0002】

【従来の技術】

神経成長因子（NGF）は神経細胞の誕生を促す作用、神経細胞の生存を維持する作用、脳の損傷時に修復する作用、脳神経の機能を回復し脳の老化を防止する作用など神経細胞の生と死に密接に関わるタンパク質である。従ってアルツハイマー型痴呆症や糖尿病合併症の神経障害等の予防・治療効果が期待されている。しかしながら NGF は分子量が大きく血液脳関門を通過できないため、血液脳関門を通過できる NGF 産生増強物質の開発が望まれている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は上記現状に鑑み、天然物由来の安全な NGF 産生増強物質を利用した治療又は予防に NGF 産生増強を要する疾患用医薬、当該化合物を高含有する飲食品等を提供することにある。

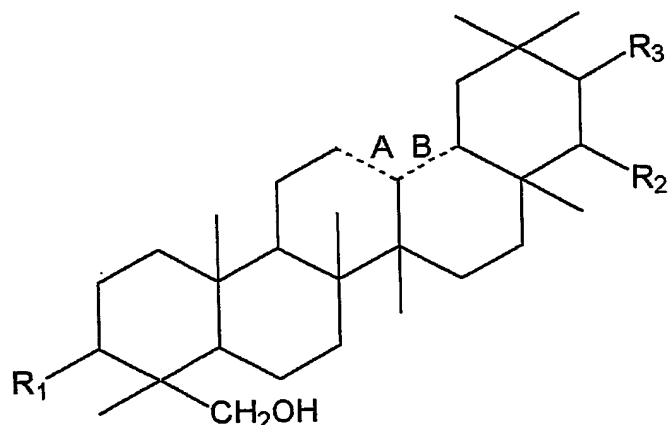
【0004】

【課題を解決するための手段】

本発明を概説すれば、本発明の第 1、第 2、第 3 及び第 4 の発明は、下記式（化 3）で表される新規な化合物、当該化合物を有効成分として含有する当該化合物に感受性を示す疾患の治療剤または予防剤、神経成長因子産生増強剤、神経成長因子産生増強食品、飲料又は飼料に関する。

【0005】

【化3】



(式中、点線で示した結合子のうちAが二重結合を示し、Bが単結合を示す場合、R₁は-O-GlcUA-Gal-Glcを示し、R₂は-O-Ara-2-AcXyl、-O-Ara-3-AcXyl、-O-Ara-4-AcXyl、-O-Ara-2,3-AcXyl、-O-Ara-2,4-AcXyl、-O-Ara-3,4-AcXyl、または-O-Ara-3,4,6-AcGlcを示し、かつR₃は-OHを示す。またAが単結合を示し、Bが二重結合を示す場合、R₁は-OHを示し、R₂は-OHを示し、かつR₃は-Hを示す。なお、GlcUAはグルクロン酸、Galはガラクトース、Glcはグルコース、Araはアラニン、AcXylはアセチル化されたキシロース、AcGlcはアセチル化されたグルコースを意味する。)

【0006】

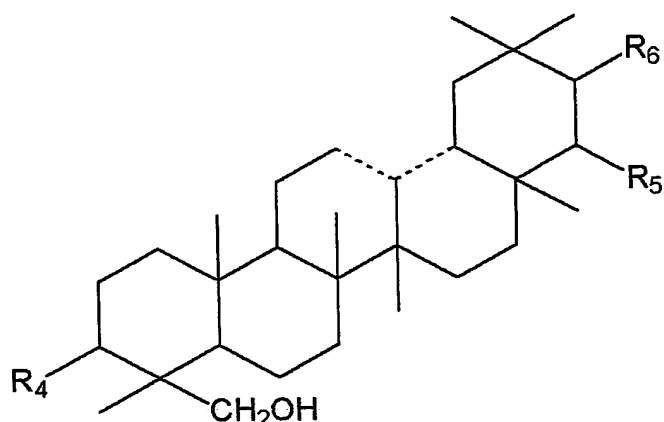
また、本発明の第5、第6および第7の発明は、ソヤサポニン類化合物、ソヤサポゲニン類化合物及び薬理学的に許容されるその塩からなる群より選択される化合物を有効成分として含有することを特徴とする治療又は予防に神経成長因子産生増強を要する疾患の治療剤または予防剤、神経成長因子産生増強剤、および神経成長因子産生増強用食品、飲料又は飼料に関する。

【0007】

本発明の第5、第6および第7の発明の態様において、ソヤサポニン類化合物及びソヤサポゲニン類化合物としては下記一般式(化4)で表わされる化合物が例示される。

【0008】

【化4】



(式中、点線で示した結合子は単結合もしくは二重結合を示し、 R_4 は $-OH$ もしくは $-O-$ 糖残基を示し、 R_5 は $-OH$ 、 $=O$ もしくは $-O-$ 糖残基を示し、 R_6 は $-OH$ もしくは $-H$ を示す。)

【0009】

本発明者らは食用植物由来のNGF産生増強物質として、特定のサポニン類化合物、サポゲニン類化合物及び／又はそれらの塩が有用であることを見出し、本発明を完成させた。本発明により医薬として利用が可能な有効成分が明確な医薬、当該サポニン類化合物、サポゲニン類化合物及び／又はその塩を高含有する飲食品、飼料の提供が可能になった。

【0010】

本明細書において、「NGF産生増強作用」及び「NGF産生増強活性」はそれぞれNGF産生増強をもたらすことおよびNGF産生を増強する機能をいうが、その意味において特に厳密に区別するものではない。「増強」には、本発明に係る有効成分の作用前に比し、作用後において目的物質の量が増加するという態様と共に、本発明に係る有効成分を作用させることにより目的物質を生起せしめるという態様（誘導）を含む。また本明細書において、有効成分として挙げるいずれの物質も単独もしくは2種以上混合して本発明において用いることができる。

【0011】

本発明において、ソヤサポニン類化合物、ソヤサポゲニン類化合物及び／又は

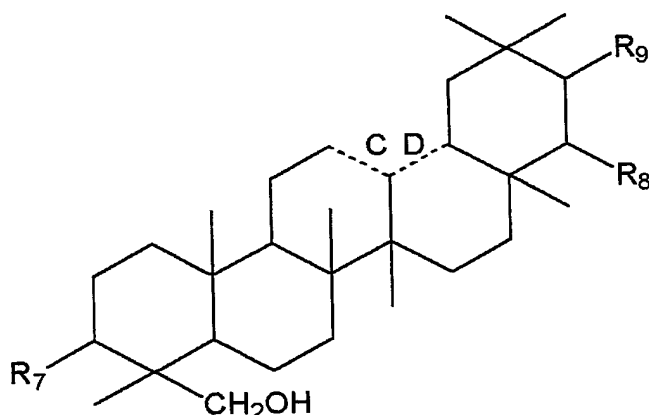
それらの塩（以下、本発明の化合物と称することがある）は、NGF産生増強作用を有していればよく、天然物由来でもよく、合成品、半合成品でもよい。天然物としては食用植物由来が好ましく、食用植物由来としては大豆等の豆類由来のソヤサポニン類化合物又はソヤサポゲニン類化合物が例示される。

【0012】

大豆には化学構造上A、B、E及びDDMPサポニンの4グループのサポニンが含まれており、Aグループサポニンは、olean-12-en-3 β , 21 β , 22 β , 24-tetraol (soyasapogenol A) をアグリコンとするサポニンであり、Bグループサポニンは、olean-12-en-3 β , 22 β , 24triol (soyasapogenol B) をアグリコンとするサポニンであり、さらにEグループサポニンはolean-12-en-3 β , 24-diol-2-one (soyasapogenol E) をアグリコンとするサポニンであり、DDMPサポニンはBグループサポニンをアグリコンとし、C-22位に2,3-dihydro-2,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-oneが結合したサポニンである（食品と開発、Vol 34, No. 7 第8～11頁, (1999)）。すなわち、本発明において、ソヤサポニン類化合物としてはA、B、Eグループ及びDDMPサポニンが特に公的に使用される。また、本発明の化合物としては、上記一般式（化4）で表される化合物が例示され、特に好適には下記一般式（化5）で表される化合物a～nが例示される。

【0013】

【化5】



（式中、点線で示した結合子C、D、およびR₇、R₈、R₉を表1に示す。）

【0014】

【表 1】

表 1

	C	D	R ₇	R ₈	R ₉
化合物 a	二重結合	単結合	-O-GlcUA-Gal-Glc	-O-Ara-2-AcXyl	-OH
化合物 b	二重結合	単結合	-O-GlcUA-Gal-Glc	-O-Ara-3-AcXyl	-OH
化合物 c	二重結合	単結合	-O-GlcUA-Gal-Glc	-O-Ara-4-AcXyl	-OH
化合物 d	二重結合	単結合	-O-GlcUA-Gal-Glc	-O-Ara-2,3-diAcXyl	-OH
化合物 e	二重結合	単結合	-O-GlcUA-Gal-Glc	-O-Ara-2,4-diAcXyl	-OH
化合物 f	二重結合	単結合	-O-GlcUA-Gal-Glc	-O-Ara-3,4-diAcXyl	-OH
化合物 g	二重結合	単結合	-O-GlcUA-Gal-Glc	-O-Ara-3,4,6-triAcGlc	-OH
化合物 h	二重結合	単結合	-O-GlcUA-Gal-Glc	-O-Ara-2,3,4,6-tetraAcGlc	-OH
化合物 i	二重結合	単結合	-O-GlcUA-Gal-Glc	-OH	-H
化合物 j	二重結合	単結合	-O-GlcUA-Gal-	-OH	-H
			Rham		
化合物 k	二重結合	単結合	-O-GlcUA-Gal-Glc	=O	-H
化合物 l	二重結合	単結合	-O-GlcUA-Gal-	=O	-H
			Rham		
化合物 m	二重結合	単結合	-O-GlcUA-Gal-Glc	-O-Ara-2,3,4-triAcXyl	-H
化合物 n	単結合	二重結合	-OH	-OH	-H

【0015】

なお、上記化合物 a～g および n、すなわち上記式（化 3）で表される化合物は、本発明により初めて得られた化合物であり、NGF 産生増強作用を有することが明らかになった。本発明においては、当該化合物、および当該化合物を有効成分とする、当該化合物に感受性を示す疾患の治療剤又は予防剤をも提供される。

【0016】

また、本発明の化合物としては、大豆由来のものが好ましいが、大豆由来でなくともソヤサポニン類化合物またはソヤサポゲニン類化合物、例えば上記一般式（化 4）で表される化合物であれば、その由来は限定されない。なお、本明細書中において、AcXyl は、アセチル化されたキシロースを意味する。AcGlc は、アセ

チル化されたグルコースを意味する。また、ソヤサポゲニン類化合物とはソヤサポニン類化合物において糖残基を有しないアグリコンもしくはその異性体を意味する。

【0017】

糖残基を構成する糖としては、単糖でも糖鎖でもよく、例えばグルコース、グルクロン酸、キシロース、ラムノース、ガラクトース、スレオース、リボース、アピオース、アロース、アラビノピラノース、リブロース、マンノース、タロース、フコース、フルクトース、ガラクツロン酸およびこれらの糖により構成される糖鎖が例示される。糖鎖中の糖の数としては、特に限定はないが、本発明の所望の効果の発現の観点から、2～5が特に好適である。またこれらの糖はアセチル化、エステル化等の修飾がされていても良い。

【0018】

さらに、本発明の化合物は、例えばエステルなど、体内で容易に加水分解し、所望の効果を発揮し得る誘導体（プロドラッグ）を形成可能である。かかるプロドラッグの調製は公知の方法に従えばよい。なお、かかる誘導体は、それらの塩であつてもよい。

【0019】

また、本発明の化合物において、塩としては薬理学的に許容される塩が好ましい。本発明で使用される塩としては、例えば、アルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩、有機塩基との塩などが例示される。なお、本発明において使用される薬理学的に許容される塩とは生物に対して実質的に無毒であつて、かつNGF酸性増強作用を有する化合物の塩を意味する。当該塩としては、たとえば、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アンモニウムまたはプロトン化されたベンザチン（N, N' -ジベンジルエチレンジアミン）、コリン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、メグラミン（N-メチルグルカミン）、ベネタミン（N-ベンジルフェネチルアミン）、ピペラジンもしくはトロメタミン（2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1, 3-プロパンジオール）との塩が挙げられる。

【0020】

また、本発明の化合物の光学異性体、ケト-エノール互変異性体、幾何異性体などの各種異性体、各異性体の単離されたものであっても、NGF産生増強作用を有する限り、全て本発明において使用することができる。従って、本発明の化合物とは、本発明の所望の効果が得られ得る限り、その誘導体、異性体ならびにそれらの塩も包含するものである。

【0021】

本発明の化合物の調製方法としては、市販の化合物を利用できるほか、植物から常法にしたがって抽出し、精製することにより得ることができる。

【0022】

天然物由来の本発明の化合物の製造方法は、公知の製造方法を組み合わせて行うことができる。例えば、ソヤサポニン類化合物、ソヤサポゲニン類化合物又はそれらの塩の含有物、例えば大豆等の植物から当該化合物を抽出し、精製することができる。抽出溶媒としては例えば、水、クロロホルム、エタノール、メタノール、イソプロピルアルコール等のアルコール類、アセトン、メチルエチルケトン等のケトン類、酢酸メチル、酢酸エチル等の親水性もしくは親油性の溶媒が、単独でもしくは混合液として用いることができる。抽出温度は必要に応じて適宜設定し、抽出操作は必要に応じて数回繰り返してもよい。精製手段としては化学的方法、物理的方法等の公知の精製手段を用いればよく、ゲルろ過法、分子量分画膜による分画法、溶媒抽出法、イオン交換樹脂等を用いた各種クロマトグラフィー法等の従来公知の精製方法を組合せ有効成分を濃縮すればよい。

【0023】

本発明の化合物を有効成分として含有し、治療又は予防にNGF産生増強を要する疾患の治療剤または予防剤が提供される。

【0024】

NGFは神経細胞の生存や機能を維持したり、NGFの濃度勾配に従って神経細胞を伸長させたりする内因性の成長因子であり、NGFの産生を増強することにより、アルツハイマー病等の老人痴呆症や末梢神経障害、脳血管障害、脳腫瘍、脳尖、頭部外傷変性疾患、麻酔薬物中毒等による神経機能の修復・再生を要する疾患の治療または予防を行うことができる。また、筋萎縮性側索硬化症、薬剤

障害性末梢神経障害、糖尿病性末梢神経障害、パーキンソン病、感覚神経障害、色素性網膜症、黄斑変性症等の治療または予防にも有用である。すなわち、本発明の医薬、飲食品、飼料を投与、摂取することにより上記疾患の治療又は予防が可能となる。

【0025】

上記した本発明の治療剤又は予防剤は、ソヤサポニン類化合物、ソヤサポゲニン類化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分とし、これを公知の医薬用担体と組合せ製剤化することにより製造できる。

【0026】

一般的には、これらの化合物を薬学的に許容できる液状または固体状の担体と配合し、かつ必要に応じて溶剤、分散剤、乳化剤、緩衝剤、安定剤、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤等を加えて、錠剤、顆粒剤、散剤、粉末剤、カプセル剤等の固形剤、通常液剤、懸濁剤、乳剤等の液剤とすることができる。また、これを使用前に適当な担体の添加によって液状となし得る乾燥品とすることができる。

【0027】

本発明の治療剤又は予防剤は、経口剤や、注射剤、点滴用剤等の非経口剤のいずれによっても投与することができる。

【0028】

本発明の治療剤又は予防剤の投与量は、その製剤形態、投与方法、使用目的およびこれに適用される患者の年齢、体重、症状によって適宜設定され、一定ではないが、一般には製剤中に含有される有効成分の量が成人1日当り $10 \mu\text{g} \sim 200 \text{mg/kg}$ である。もちろん、投与量は、種々の条件によって変動するので、上記投与量より少ない量で十分な場合もあるし、あるいは範囲を超えて必要な場合もある。本発明の薬剤はそのまま経口投与するほか、任意の飲食品に添加して日常的に摂取させることもできる。

【0029】

また、本発明は本発明の化合物を有効成分として含有するNGF産生増強剤を提供することもできる。当該増強剤としては、前記有効成分そのものであってもよく、また、前記有効成分を含む組成物であってもよい。本発明の態様において

は、有効成分としての塩は薬理学的に許容される塩が好適である。NGF産生増強剤は、たとえば、前記有効成分を当該有効成分と同じ用途に使用可能な他の成分などと配合し、上記治療剤または予防剤の製造方法に準じて通常使用される試薬の形態に製造すればよい。かかる増強剤における前記有効成分の含有量は、当該増強剤の投与方法、使用目的などを考慮し、本発明の所望の効果の発現が得られ得るような量であればよく、特に限定されるものではない。また、該増強剤の使用量も、本発明の所望の効果の発現が得られ得るようであれば特に限定されるものではない。特に、生体に投与して使用する場合には、好ましくは前記治療剤または予防剤における有効成分の投与量範囲内で有効成分を投与できるような量で使用すればよい。NGF産生増強剤は、NGF産生増強を必要とする疾患における当該成長因子の増強に有用である。また、当該増強剤はNGFに関連する疾患に対する薬物のスクリーニングにも有用である。さらに当該増強剤は、NGF又は神経細胞の物理的変化に関する機能研究にも有用である。

【0030】

つぎに、本発明の飲食品又は飼料は、本発明の化合物を含有、添加および／または希釈してなる食品、飲料又は飼料であり、そのNGF産生誘増強作用により、治療又は予防にNGF産生増強を要する疾患の症状改善、予防に極めて有用である。

本発明の食品、飲料又は飼料の製造方法は、特に限定はないが、一般に用いられている食品、飲料又は飼料の製造方法を採用でき、製造された食品、飲料又は飼料に、本発明の化合物が有効成分として高含有されていればよく、通常の飲食品、飼料より高含有されておれば良い。なお、ここで高含有とは、原料、例えば大豆の単位重量あたりの本発明の化合物重量よりも本発明の食品、飲料又は飼料の単位重量あたりの本発明の化合物重量の方が多いことを意味する。

【0031】

本発明の食品又は飲料は、特に限定するものではないが、例えば、穀物加工品（例、小麦粉加工品、デンプン類加工品、プレミックス加工品、麺類、マカロニ類、パン類、あん類、そば類、麩、ビーフン、はるさめ、包装餅等）、油脂加工品（例、可塑性油脂、てんぷら油、サラダ油、マヨネーズ類、ドレッシング等）

、大豆加工品（例、豆腐類、味噌、納豆等）、食肉加工品（例、ハム、ベーコン、プレスハム、ソーセージ等）、水産製品（例、冷凍すりみ、かまぼこ、ちくわ、はんぺん、さつま揚げ、つみれ、すじ、魚肉ハム、ソーセージ、かつお節、魚卵加工品、水産缶詰、つくだ煮等）、乳製品（例、原料乳、クリーム、ヨーグルト、バター、チーズ、練乳、粉乳、アイスクリーム等）、野菜・果実加工品（例、ペースト類、ジャム類、漬物類、果実飲料、野菜飲料、ミックス飲料等）、菓子類（例、チョコレート、ビスケット類、菓子パン類、ケーキ、餅菓子、米菓類等）、アルコール類（例、日本酒、中国酒、ワイン、ウイスキー、焼酎、ウオッカ、ブランデー、ジン、ラム酒、ビール、清涼アルコール飲料、果実酒、リキュール等）、嗜好飲料（例、緑茶、紅茶、ウーロン茶、コーヒー、清涼飲料、乳酸飲料等）、調味料（例、しょうゆ、ソース、酢、みりん等）、缶詰・瓶詰・袋詰食品（例、牛飯、釜飯、赤飯、カレー、その他の各種調理済食品等）、半乾燥または濃縮食品（例、レバーペースト、その他のスプレッド、そば・うどんの汁、濃縮スープ類等）、乾燥食品（例、即席麺類、即席カレー、インスタントコーヒー、粉末ジュース、粉末スープ、即席味噌汁、調理済食品、調理済飲料、調理済スープ等）、冷凍食品（例、すき焼き、茶碗蒸し、うなぎかば焼き、ハンバーグステーキ、シュウマイ、餃子、各種スティック、フルーツカクテル等）、固形食品、液体食品（例、スープ等）、香辛料類等の農産・林産加工品、畜産加工品、水産加工品等が挙げられる。

【0032】

本発明の飼料とは例えば、家畜用、養殖魚用、家禽用、ペット用の飼料であり、本発明の化合物を含有する、ヒト以外の生物の人工食料又は飲料を意味する。

【0033】

本発明において医薬、飲食品、飼料中の本発明の化合物含量はその投与、摂取等により、生体内でNGF産生が増強される濃度であればよく、通常の飲食品中のソヤサポニン類化合物及びソヤサポゲニン類化合物の含有量以上に高含有されているのが望ましい。

【0034】

本発明で使用するサポニン類化合物またはその塩はマウスの経口投与において

毒性は認められない。

【0035】

また、本発明はNGF産生増強作用を有する上記式(化3)に記載の新規なソヤサポニン類化合物及びソヤサポゲニン類化合物も提供する。その製造方法については、下記実施例を参考に製造することができる。

【0036】

【実施例】

以下、本発明を実施例をもって詳細に説明するが本発明はこれらの実施例に何ら限定されるものではない。

【0037】

実施例1 大豆胚芽水抽出物由来フラクションの分画

(1) 乾燥大豆胚芽9.6kgに蒸留水25リットルを加えて1時間浸漬した後、ブレンダーにて破碎を行った。つぎに、蒸留水40リットルを加えて2時間攪拌した後、5000gにて7分間遠心分離を行ない、沈殿1ならびに上清1(54リットル)を得た。沈殿1に蒸留水40リットルを加えて2時間攪拌した後、5000gにて7分間遠心分離を行ない、沈殿2(19.7kg)ならびに上清2(36リットル)を得た。上清1および上清2を混合し、大豆胚芽水抽出液901を得た。

【0038】

(2) 実施例1-(1)で得られた大豆胚芽水抽出液90リットルに対し、エタノール39リットルを添加して攪拌の後、5000gにて7分間遠心分離を行ない、沈殿3ならびに上清3(90リットル)を得た。上清3をロータリーエバポレーターで18リットルに濃縮し、等量のエタノールを加えて攪拌後、5000gにて7分間遠心分離を行ない、沈殿4ならびに上清4(15リットル)を得た。上清4を濃縮し、大豆胚芽水抽出濃縮液1.7リットルを得た。

【0039】

(3) 実施例1-(2)で得られた大豆胚芽水抽出濃縮液110mlに蒸留水500mlを添加したものについて、逆相クロマトグラフィーを用いて分画した。樹脂はコスモシル140 C18-OPN(ナカライテスク社製:樹脂量3

00ml)を用いた。展開溶媒としてそれぞれ1500mlの蒸留水、30%エタノール水溶液、50%エタノール水溶液、100%エタノールの順に溶出、分画を行ない、各大豆胚芽水抽出物由来コスモシル溶出面分を調製した。

【0040】

(4) 実施例1-(3)で得られた大豆胚芽水抽出物由来コスモシル30%エタノール溶出面分を減圧濃縮後、3倍量のアセトンを加えて攪拌し、5000gにて7分間遠心分離を行ない、沈殿5ならびに上清5を得た。

【0041】

(5) 実施例1-(4)で得られた上清5を濃縮乾固後、酢酸エチル：酢酸：水=8：3：2(10ml)に溶解し、シリカクロマトを用いて分画した。以下にその条件について示す。シリカゲルにはBW-300SP(富士シリシア化学社製：樹脂量300ml)を用いた。展開溶媒として酢酸エチル：酢酸：水=8：3：2(1000ml)、エタノール：水=5：1(500ml)の順に溶出を行ない、画分0(300ml)、画分1(200ml)、画分2(200ml)、画分3(100ml)、画分4(150ml)、画分5(200ml)、画分6(120ml)の順に溶出面分を得た。各溶出液を減圧濃縮後、各大豆胚芽水抽出物由来シリカカラム画分0～6を得た。

【0042】

(6) 実施例1-(5)で得られた大豆胚芽水抽出物由来シリカカラム画分5を蒸留水60mlに溶解し、ついで逆相クロマトグラフィーを用いて分画した。以下にその条件について述べる。カラムはTSK gel ODS-80Ts(21.5mm×30cm：東ソー社製)を用いた。溶媒A(蒸留水とアセトニトリルを容量比3対1で混合したもの)と溶媒B(蒸留水とアセトニトリルを容量比1対3で混合したもの)の溶出比は0～10分までは溶媒A比を100%に保持し、10～25分までは溶媒B比を直線的に0～30%に、つづく25～40分までは溶媒B比を直線的に30～100%に、つづく15分間は溶媒B比を100%に保持した。溶出速度は5ml/分、検出は215nmで行なった。溶出液の紫外線吸収を指標に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション1～21を分画した。

【0043】

実施例 2 3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-22-O-[2-O-acetyl- β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl]soyasapogenol AのNGF産生増強活性

(1) 実施例 1-(6) で分画した大豆胚芽水抽出物由来フラクション 7 (保持時間 32.4 分の検出のピークを含むフラクション) の質量スペクトル (MS) を質量分析計 (DX302: 日本電子社製) により FAB-MS の手法で測定した。マトリックスにはトリエタノールアミンを用いた。その結果、 m/z 1279 ($M-H$) のピークを検出した。図 1 に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション 7 の質量スペクトルを示す。図 1 において、横軸は m/z 値、縦軸は相対強度を示す。

【0044】

また、大豆胚芽水抽出物由来フラクション 7 を核磁気共鳴 (NMR) スペクトル装置 (AVANCE 600 型: ブルカ・バイオスピン社製) を用い、各種 NMR スペクトルを測定し構造解析した。以下に NMR の帰属の信号を示す。

【0045】

1H -NMR:

sapogenol moiety; δ 3.28 (1H, m, 3-H), 5.15 (1H, br-s, 12-H), 3.45 (1H, m, 21-H), 3.23 (1H, br-s, 22-H), 3.14 (1H, m, 24-H), 3.85 (1H, m, 24-H)

3-O- β -D-glucuronopyranosyl moiety; δ 4.45 (1H, d, $J=7.2$ Hz, 1'-H), 3.44 (1H, m, 2'-H), 3.57 (1H, m, 3'-H), 3.32 (1H, m, 4'-H), 3.65 (1H, m, 5'-H)

2'-O- β -D-galactopyranosyl moiety; δ 4.81 (1H, d, $J=6.6$ Hz, 1''-H), 3.51 (1H, m, 2''-H), 3.51 (1H, m, 3''-H), 3.65 (1H, m, 4''-H), 3.38 (1H, m, 5''-H), 3.50 (2H, m, 6''-H)

2''-O- β -D-glucopyranosyl moiety; δ 4.38 (1H, d, $J=7.8$ Hz, 1'''-H), 3.02 (1H, m, 2'''-H), 3.17 (1H, m, 3'''-H), 3.08 (1H, m, 4'''-H), 3.14 (1H, m, 5'''-H), 3.46 (1H, m, 6'''-H), 3.73 (1H, m, 6'''-H)

22-O- α -L-arabinopyranosyl moiety; δ 4.13 (1H, m, 1''''-H), 3.42 (1H, m, 2''''-H), 3.42 (1H, m, 3''''-H), 3.69 (1H, m, 4''''-H), 3.35 (1H, m, 5''''-H), 3.62 (1H, m, 5'

'''-H)

3''''-O- β -D-xylopyranosyl moiety; δ 4.57(1H, d, J=7.8 Hz, 1''''-H), 4.52(1H, m, 2''''-H), 3.29(1H, m, 3''''-H), 3.37(1H, m, 4''''-H), 3.09(1H, m, 5''''-H), 3.72(1H, m, 5''''-H), 2.00(3H, s, 2''''-CH₃)

但し、¹H-NMRにおいてはサンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの残留プロトンの化学シフト値を2.51ppmとして表した。図2に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション7の¹H-NMRスペクトルを示す。図2において、横軸は化学シフト値、縦軸はシグナルの強度を示す。

【0046】

¹³C-NMR:

sapogenol moiety; δ 90.3(3-C), 122.5(12-C), 144.4(13-C), 74.7(21-C), 92.0(22-C), 63.0(24-C)

3-O- β -D-glucronopyranosyl moiety; δ 104.1(1'-C), 79.0(2'-C), 76.6(3'-C), 71.9(4'-C), 76.2(5'-C), 171.0(6'-C)

2'-O- β -D-galactopyranosyl moiety; δ 101.6(1''-C), 82.7(2''-C), 73.4(3''-C), 69.0(4''-C), 75.5(5''-C), 60.9(6''-C)

2''-O- β -D-glucopyranosyl moiety; δ 105.3(1'''-C), 75.5(2'''-C), 76.7(3'''-C), 70.6(4'''-C), 78.1(5'''-C), 61.8(6'''-C)

22-O- α -L-arabinopyranosyl moiety; δ 108.0(1''''-C), 71.9(2''''-C), 83.0(3''''-C), 68.5(4''''-C), 67.0(5''''-C)

3''''-O- β -D-xylopyranosyl moiety; δ 103.3(1'''''-C), 74.6(2'''''-C), 74.7(3'''''-C), 70.2(4'''''-C), 65.3(5'''''-C), 170.5(2'''''-C=O), 21.8(2'''''-CH₃)

但し、¹³C-NMRにおいてはサンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの化学シフト値を40.2ppmとして表した。図3に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション7の¹³C-NMRスペクトルを示す。図3において、横軸は化学シフト値、縦軸はシグナルの強度を示す。

【0047】

大豆胚芽水抽出物由来フラクション7を1N H₂SO₄ (ジオキサンと水1

: 3 溶液) 中にて 80℃、4 時間加温し、糖成分と非糖成分を生じさせた。非糖部分について薄層クロマトグラフィー (メルク社製 Silica gel 60 F 254、展開溶媒 A: クロロホルムとメタノールを 10:1 で混合) を行った結果、Soyasapogenol A と同じ Rf 値を有するスポットを検出した。糖成分について薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 B: 水とアセトニトリルを 3:17 で混合) を行った結果、アラビノース、グルコース、キシロース、ガラクトースを検出した。

【0048】

以上、大豆胚芽水抽出物由来フラクション 7 について行った質量スペクトル、NMR スペクトル解析、ならびに酸加水分解後の非糖成分と糖成分の解析により、大豆胚芽水抽出物由来フラクション 7 が 3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-22-O-[2-O-acetyl- β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl]soyasapogenol A (分子量 1280) であることを確定した。なお、当該化合物は上記表 1 における化合物 a である。

【0049】

(2) 化合物 a の NGF 産生増強活性を測定した。マウス繊維芽細胞 L-M 細胞 (ATCC CCL-1.2) を 0.5% のバクトペプトン (ギブコ社製) を含む M199 培地 (バイオウィタカ社製) で 1.5×10^5 細胞/ml に懸濁し、96 穴プレートに 0.1 ml ずつまき無菌的に培養した。3 日間培養後、培地を取り除き、0.5% のウシ血清アルブミン (シグマ社製) を含む M199 培地に置き換えた。これに化合物 a を添加し、20 時間培養した。培養終了後、培養液中の NGF の濃度をエンザイムイムノアッセイ法 (NGF Emax Immuno Assay System: プロメガ社製) にて測定した。添加量は最終濃度を表 2 に示す通り添加した。実験は 2 連で行い、その平均値を採用した。その結果、化合物 a に NGF 産生増強活性があることが明らかになった。表 2 にその結果を示す。なお、コントロールの NGF 産生量は 0.739 ng/ml であった。

【0050】

実施例 3 3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-22-O-[3-O-acetyl- β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl]soyasapogenol A の N G F 産生増強活性

(1) 実施例 1 - (6) で分画した大豆胚芽水抽出物由来フラクション 9 (保持時間 34.2 分の検出のピークを含むフラクション) の質量スペクトルを実施例 2 - (1) と同様の方法で測定した。マトリックスにはトリエタノールアミンを用いた。質量分析により m/z 1279 ($M-H$) のピークを検出した。図 4 に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション 9 の質量スペクトルを示す。図 4 において、横軸は m/z 値、縦軸は相対強度を示す。

【0051】

大豆胚芽水抽出物由来フラクション 9 の NMR スペクトルを実施例 2 - (1) と同様の方法で測定した。NMR の帰属の信号を以下に示す。

【0052】

1H -NMR:

sapogenol moiety; δ 3.27 (1H, m, 3-H), 5.14 (1H, br-s, 12-H), 3.39 (1H, m, 21-H), 3.24 (1H, br-s, 22-H), 3.14 (1H, m, 24-H), 3.86 (1H, m, 24-H)

3-O- β -D-glucuronopyranosyl moiety; δ 4.45 (1H, m, 1'-H), 3.43 (1H, m, 2'-H), 3.57 (1H, m, 3'-H), 3.33 (1H, t, $J=9.7$ Hz, 4'-H), 3.65 (1H, m, 5'-H)

2'-O- β -D-galactopyranosyl moiety; δ 4.80 (1H, d, $J=6.6$ Hz, 1''-H), 3.51 (1H, m, 2''-H), 3.51 (1H, m, 3''-H), 3.65 (1H, m, 4''-H), 3.38 (1H, m, 5''-H), 3.50 (2H, m, 6''-H)

2''-O- β -D-glucopyranosyl moiety; δ 4.37 (1H, d, $J=7.8$ Hz, 1'''-H), 3.03 (1H, dd, $J=7.8, 9.0$ Hz, 2'''-H), 3.17 (1H, t, $J=9.0$ Hz, 3'''-H), 3.07 (1H, t, $J=9.0$ Hz, 4'''-H), 3.15 (1H, m, 5'''-H), 3.47 (1H, m, 6'''-H), 3.73 (1H, m, 6'''-H)

22-O- α -L-arabinopyranosyl moiety; δ 4.22 (1H, d, $J=7.8$ Hz, 1''''-H), 3.55 (1H, m, 2''''-H), 3.51 (1H, m, 3''''-H), 3.75 (1H, m, 4''''-H), 3.40 (1H, m, 5''''-H), 3.63 (1H, m, 5''''-H)

3''''-O- β -D-xylopyranosyl moiety; δ 4.47 (1H, m, 1'''''-H), 3.23 (1H, m, 2'''''-H), 4.72 (1H, t, $J=9.3$ Hz, 3'''''-H), 3.48 (1H, m, 4'''''-H), 3.18 (1H, m, 5'''''-H)

, 3.74 (1H, m, 5''''-H), 2.03 (3H, s, 3''''-CH₃)

但し、¹H-NMRにおいてはサンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの残留プロトンの化学シフト値を2.51 ppmとして表した。図5に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション9の¹H-NMRスペクトルを示す。図5において、横軸は化学シフト値、縦軸はシグナルの強度を示す。

【0053】

¹³C-NMR:

sapogenol moiety; δ 90.4 (3-C), 122.5 (12-C), 144.4 (13-C), 75.0 (21-C), 92.3 (22-C), 63.0 (24-C)

3-O- β -D-glucronopyranosyl moiety; δ 104.1 (1'-C), 78.9 (2'-C), 76.7 (3'-C), 72.0 (4'-C), 76.1 (5'-C), 171.0 (6'-C)

2'-O- β -D-galactopyranosyl moiety; δ 101.6 (1''-C), 82.7 (2''-C), 73.4 (3''-C), 69.0 (4''-C), 75.7 (5''-C), 61.0 (6''-C)

2''-O- β -D-glucopyranosyl moiety; δ 105.3 (1'''-C), 75.5 (2'''-C), 76.8 (3'''-C), 70.6 (4'''-C), 78.1 (5'''-C), 61.8 (6'''-C)

22-O- α -L-arabinopyranosyl moiety; δ 107.4 (1''''-C), 71.9 (2''''-C), 83.7 (3''''-C), 68.5 (4''''-C), 67.0 (5''''-C)

3''''-O- β -D-xylopyranosyl moiety; δ 105.6 (1'''''-C), 72.2 (2'''''-C), 77.8 (3'''''-C), 68.1 (4'''''-C), 66.3 (5'''''-C), 170.8 (3'''''-C=O), 21.9 (3'''''-CH₃)

但し、¹³C-NMRにおいてはサンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの化学シフト値を40.2 ppmとして表した。図6に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション9の¹³C-NMRスペクトルを示す。図6において、横軸は化学シフト値、縦軸はシグナルの強度を示す。

【0054】

大豆胚芽水抽出物由来フラクション9を実施例2-(1)と同様の方法で加水分解に処し、糖成分と非糖成分を生じさせた。非糖部分について薄層クロマトグラフィー（展開溶媒A）を行った結果、Soyasapogenol Aと同じR_f値を有するスポットを検出した。糖成分について薄層クロマトグラフィー（

展開溶媒B)を行った結果、アラビノース、グルコース、キシロース、ガラクトースを検出した。

【0055】

以上の結果より、大豆胚芽水抽出物由来フラクション9が3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-22-O-[3-O-acetyl- β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl]soyasapogenol A(分子量1280)であることを確定した。なお、当該化合物は上記表1における化合物bである。

【0056】

(2) 化合物bを実施例2-(2)と同様の方法で測定した。その結果、化合物bにNGF産生増強活性があることが明らかになった。表2にその結果を示す。なお、コントロールのNGF産生量は0.739 ng/mlであった。

【0057】

実施例4 3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-22-O-[4-O-acetyl- β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl]soyasapogenol AのNGF産生増強活性

(1) 実施例1-(6)で分画した大豆胚芽水抽出物由来フラクション10(保持時間35.6分の検出のピークを含むフラクション)の質量スペクトルを実施例2-(1)と同様の方法で測定した。マトリックスにはトリエタノールアミンを用いた。質量分析によりm/z 1279(M-H)⁻のピークを検出した。図7に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション10の質量スペクトルを示す。図7において、横軸はm/z値、縦軸は相対強度を示す。

【0058】

大豆胚芽水抽出物由来フラクション10のNMRスペクトルを実施例2-(1)と同様の方法で測定した。NMRの帰属の信号を以下に示す。

【0059】

¹H-NMR:

sapogenol moiety; δ 3.26(1H, m, 3-H), 5.15(1H, br-s, 12-H), 3.39(1H, m, 21-H), 3.23(1H, br-s, 22-H), 3.15(1H, m, 24-H), 3.86(1H, m, 24-H)

3-O- β -D-glucronopyranosyl moiety; δ 4.46(1H, d, J=7.2 Hz, 1'-H), 3.43(1H, m, 2'-H), 3.56(1H, m, 3'-H), 3.33(1H, m, 4'-H), 3.65(1H, m, 5'-H)

2'-O- β -D-galactopyranosyl moiety; δ 4.81(1H, d, J=7.2 Hz, 1''-H), 3.51(1H, m, 2''-H), 3.51(1H, m, 3''-H), 3.65(1H, m, 4''-H), 3.38(1H, m, 5''-H), 3.50(2H, m, 6''-H)

2''-O- β -D-glucopyranosyl moiety; δ 4.38(1H, d, J=7.8 Hz, 1'''-H), 3.02(1H, m, 2'''-H), 3.16(1H, m, 3'''-H), 3.08(1H, m, 4'''-H), 3.15(1H, m, 5'''-H), 3.47(1H, m, 6'''-H), 3.73(1H, m, 6'''-H)

22-O- α -L-arabinopyranosyl moiety; δ 4.22(1H, d, J=7.2 Hz, 1''''-H), 3.57(1H, m, 2''''-H), 3.46(1H, m, 3''''-H), 3.74(1H, m, 4''''-H), 3.39(1H, m, 5''''-H), 3.62(1H, m, 5''''-H)

3''''-O- β -D-xylopyranosyl moiety; δ 4.43(1H, d, J=7.2 Hz, 1'''''-H), 3.39(1H, m, 2'''''-H), 3.18(1H, m, 3'''''-H), 4.53(1H, m, 4'''''-H), 3.17(1H, m, 5'''''-H), 3.78(1H, m, 5'''''-H), 2.01(3H, s, 4'''''-CH₃)

但し、¹H-NMRにおいてはサンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの残留プロトンの化学シフト値を2.51ppmとして表した。図8に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション10の¹H-NMRスペクトルを示す。図8において、横軸は化学シフト値、縦軸はシグナルの強度を示す。

【0060】

¹³C-NMR:

sapogenol moiety; δ 90.3(3-C), 122.5(12-C), 144.4(13-C), 75.0(21-C), 92.4(22-C), 63.0(24-C)

3-O- β -D-glucronopyranosyl moiety; δ 104.1(1'-C), 78.8(2'-C), 76.5(3'-C), 71.9(4'-C), 76.2(5'-C), 171.0(6'-C)

2'-O- β -D-galactopyranosyl moiety; δ 101.5(1''-C), 82.7(2''-C), 73.3(3''-C), 69.0(4''-C), 75.7(5''-C), 60.9(6''-C)

2''-O- β -D-glucopyranosyl moiety; δ 105.3(1'''-C), 75.5(2'''-C), 76.8(3'''-C), 70.6(4'''-C), 78.1(5'''-C), 61.8(6'''-C)

22-0- α -L-arabinopyranosyl moiety; δ 107.5(1''''-C), 71.8(2''''-C), 83.9(3''''-C), 68.4(4''''-C), 67.0(5''''-C)

3''''-0- β -D-xylopyranosyl moiety; δ 105.9(1''''-C), 73.3(2''''-C), 74.5(3''''-C), 72.3(4''''-C), 62.8(5''''-C), 171.0(4''''-C=O), 21.7(4''''-CH₃)

但し、 ^{13}C -NMRにおいてはサンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの化学シフト値を40.2 ppmとして表した。図9に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション10の ^{13}C -NMRスペクトルを示す。図9において、横軸は化学シフト値、縦軸はシグナルの強度を示す。

【0061】

大豆胚芽水抽出物由来フラクション10を実施例2-(1)と同様の方法で加水分解に処し、糖成分と非糖成分を生じさせた。非糖部分について薄層クロマトグラフィー(展開溶媒A)を行った結果、Soyasapogenol Aと同じR_f値を有するスポットを検出した。糖成分について薄層クロマトグラフィー(展開溶媒B)を行った結果、アラビノース、グルコース、キシロース、ガラクトースを検出した。

【0062】

以上の結果より、大豆胚芽水抽出物由来フラクション10が3-0- $[\beta$ -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-22-0-[4-0-acetyl- β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl]soyasapogenol A(分子量1280)であることを確定した。なお、当該化合物は上記表1における化合物cである。

【0063】

(2) 化合物cのNGF産生増強活性を実施例2-(2)と同様の方法で測定した。その結果、化合物cにNGF産生増強活性があることが明らかになった。表2にその結果を示す。なお、コントロールのNGF産生量は0.739 ng/mlであった。

【0064】

実施例5 3-0- $[\beta$ -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β

-D-glucuronopyranosyl]-22-O-[2,3-di-O-acetyl- β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl]soyasapogenol AのNGF産生増強活性

(1) 実施例1-(6)で分画した大豆胚芽水抽出物由来フラクション12(保持時間38.2分の検出のピークを含むフラクション)の質量スペクトルを実施例2-(1)と同様の方法で測定した。マトリックスにはm-ニトロベンジルアルコールを用いた。質量分析によりm/z 1321 (M-H)⁻のピークを検出した。図10に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション12の質量スペクトルを示す。図10において、横軸はm/z値、縦軸は相対強度を示す。

【0065】

大豆胚芽水抽出物由来フラクション12のNMRスペクトルを実施例2-(1)と同様の方法で測定した。NMRの帰属の信号を以下に示す。

【0066】

¹H-NMR:

sapogenol moiety; δ 3.26(1H, m, 3-H), 5.14(1H, br-s, 12-H), 3.43(1H, m, 21-H), 3.23(1H, br-s, 22-H), 3.15(1H, m, 24-H), 3.86(1H, m, 24-H)

3-O- β -D-glucronopyranosyl moiety; δ 4.46(1H, d, J=7.8 Hz, 1'-H), 3.44(1H, m, 2'-H), 3.56(1H, m, 3'-H), 3.33(1H, m, 4'-H), 3.65(1H, m, 5'-H)

2'-O- β -D-galactopyranosyl moiety; δ 4.80(1H, d, J=6.6 Hz, 1''-H), 3.50(1H, m, 2''-H), 3.51(1H, m, 3''-H), 3.65(1H, m, 4''-H), 3.38(1H, m, 5''-H), 3.50(2H, m, 6''-H)

2''-O- β -D-glucopyranosyl moiety; δ 4.37(1H, d, J=7.8 Hz, 1'''-H), 3.03(1H, m, 2'''-H), 3.17(1H, m, 3'''-H), 3.08(1H, m, 4'''-H), 3.14(1H, m, 5'''-H), 3.47(1H, m, 6'''-H), 3.73(1H, m, 6'''-H)

22-O- α -L-arabinopyranosyl moiety; δ 4.15(1H, d, J=6.6 Hz, 1''''-H), 3.42(1H, m, 2''''-H), 3.45(1H, m, 3''''-H), 3.71(1H, m, 4''''-H), 3.35(1H, m, 5''''-H), 3.62(1H, m, 5''''-H)

3''''-O- β -D-xylopyranosyl moiety; δ 4.74(1H, d, J=7.2 Hz, 1'''''-H), 4.65(1H, m, 2'''''-H), 4.83(1H, t, J=7.2 Hz, 3'''''-H), 3.60(1H, m, 4'''''-H), 3.82(1H, m, 5'''''-H), 3.24(1H, m, 5'''''-H), 1.95(3H, s, 2'''''-CH₃), 1.98(3H, s, 3'''''-CH₃)

但し、 ^1H -NMRにおいてはサンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの残留プロトンの化学シフト値を2.51 ppmとして表した。図11に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション12の ^1H -NMRスペクトルを示す。図11において、横軸は化学シフト値、縦軸はシグナルの強度を示す。

【0067】

^{13}C -NMR:

sapogenol moiety; δ 90.3(3-C), 122.5(12-C), 144.4(13-C), 74.8(21-C), 91.8(22-C), 63.0(24-C)

3-O- β -D-glucronopyranosyl moiety; δ 104.1(1'-C), 79.0(2'-C), 76.6(3'-C), 71.9(4'-C), 76.1(5'-C), 171.0(6'-C)

2'-O- β -D-galactopyranosyl moiety; δ 101.5(1''-C), 82.7(2''-C), 73.3(3''-C), 69.0(4''-C), 75.8(5''-C), 60.9(6''-C)

2''-O- β -D-glucopyranosyl moiety; δ 105.3(1'''-C), 75.5(2'''-C), 76.7(3'''-C), 70.6(4'''-C), 78.1(5'''-C), 61.8(6'''-C)

22-O- α -L-arabinopyranosyl moiety; δ 107.9(1''''-C), 72.0(2''''-C), 83.5(3''''-C), 68.4(4''''-C), 67.0(5''''-C)

3''''-O- β -D-xylopyranosyl moiety; δ 102.8(1''''-C), 72.4(2''''-C), 76.0(3''''-C), 68.0(4''''-C), 66.0(5''''-C), 170.4(2''''-C=O), 21.5(2''''-CH₃), 170.7(3''''-C=O), 21.5(3''''-CH₃)

但し、 ^{13}C -NMRにおいてはサンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの化学シフト値を40.2 ppmとして表した。図12に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション12の ^{13}C -NMRスペクトルを示す。図12において、横軸は化学シフト値、縦軸はシグナルの強度を示す。

【0068】

大豆胚芽水抽出物由来フラクション12を実施例2-(1)と同様の方法で加水分解に処し、糖成分と非糖成分を生じさせた。非糖部分について薄層クロマトグラフィー(展開溶媒A)を行った結果、Soyasapogenol Aと同

じ R f 値を有するスポットを検出した。糖成分について薄層クロマトグラフィー（展開溶媒 B）を行った結果、アラビノース、グルコース、キシロース、ガラクトースを検出した。

【0069】

以上の結果より、大豆胚芽水抽出物由来フラクション 12 が 3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-22-O-[2,3-di-O-acetyl- β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl]soyasapogenol A（分子量 1322）であることを確定した。なお、当該化合物は上記表 1 における化合物 d である。

【0070】

(2) 化合物 d の NGF 産生増強活性を実施例 2-(2) と同様の方法で測定した。その結果、化合物 d に NGF 産生増強活性があることが明らかになった。表 2 にその結果を示す。なお、コントロールの NGF 産生量は 0.739 ng/ml であった。

【0071】

実施例 6 3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-22-O-[2,4-di-O-acetyl- β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl]soyasapogenol A の NGF 産生増強活性

【0072】

(1) 実施例 1-(6) で分画した大豆胚芽水抽出物由来フラクション 13（保持時間 38.9 分の検出のピークを含むフラクション）の質量スペクトルを実施例 2-(1) と同様の方法で測定した。マトリックスには m-ニトロベンジルアルコールを用いた。質量分析により m/z 1321 (M-H)⁻ のピークを検出した。図 13 に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション 13 の質量スペクトルを示す。図 13 において、横軸は m/z 値、縦軸は相対強度を示す。

【0073】

大豆胚芽水抽出物由来フラクション 13 の NMR スペクトルを実施例 2-(1) と同様の方法で測定した。NMR の帰属の信号を以下に示す。

【0074】

$^1\text{H-NMR}$:

sapogenol moiety; δ 3.27 (1H, m, 3-H), 5.14 (1H, br-s, 12-H), 3.45 (1H, m, 21-H), 3.22 (1H, br-s, 22-H), 3.12 (1H, m, 24-H), 3.85 (1H, m, 24-H)

3-O- β -D-glucronopyranosyl moiety; δ 4.46 (1H, d, $J=7.2$ Hz, 1'-H), 3.43 (1H, m, 2'-H), 3.57 (1H, m, 3'-H), 3.33 (1H, m, 4'-H), 3.64 (1H, m, 5'-H)

2'-O- β -D-galactopyranosyl moiety; δ 4.81 (1H, d, $J=6.6$ Hz, 1''-H), 3.51 (1H, m, 2''-H), 3.51 (1H, m, 3''-H), 3.64 (1H, m, 4''-H), 3.38 (1H, m, 5''-H), 3.50 (2H, m, 6''-H)

2''-O- β -D-glucopyranosyl moiety; δ 4.38 (1H, d, $J=7.8$ Hz, 1'''-H), 3.02 (1H, m, 2'''-H), 3.17 (1H, m, 3'''-H), 3.08 (1H, m, 4'''-H), 3.14 (1H, m, 5'''-H), 3.47 (1H, m, 6'''-H), 3.72 (1H, m, 6'''-H)

22-O- α -L-arabinopyranosyl moiety; δ 4.15 (1H, d, 1''''-H), 3.44 (1H, m, 2''''-H), 3.43 (1H, m, 3''''-H), 3.69 (1H, m, 4''''-H), 3.35 (1H, m, 5''''-H), 3.60 (1H, m, 5''''-H)

3''''-O- β -D-xylopyranosyl moiety; δ 4.70 (1H, d, $J=7.2$ Hz, 1'''''-H), 4.62 (1H, m, 2'''''-H), 3.60 (1H, m, 3'''''-H), 4.59 (1H, m, 4'''''-H), 3.27 (1H, m, 5'''''-H), 3.90 (1H, m, 5'''''-H), 2.02 (3H, s, 2'''''-CH₃), 2.02 (3H, s, 4'''''-CH₃)

但し、 $^1\text{H-NMR}$ においてはサンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの残留プロトンの化学シフト値を 2.51 ppm として表した。図 14 に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション 13 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを示す。図 14 において、横軸は化学シフト値、縦軸はシグナルの強度を示す。

【0075】

 $^{13}\text{C-NMR}$:

sapogenol moiety; δ 90.3 (3-C), 122.5 (12-C), 144.4 (13-C), 74.8 (21-C), 91.8 (22-C), 63.0 (24-C)

3-O- β -D-glucronopyranosyl moiety; δ 104.1 (1'-C), 78.7 (2'-C), 76.6 (3'-C), 71.9 (4'-C), 76.1 (5'-C), 171.0 (6'-C)

2'-O- β -D-galactopyranosyl moiety; δ 101.5 (1''-C), 82.7 (2''-C), 73.3 (3''-C)

, 69.0(4''-C), 75.5(5''-C), 60.9(6''-C)

2''-O- β -D-glucopyranosyl moiety; δ 105.3(1'''-C), 75.5(2'''-C), 76.7(3'''-C), 70.6(4'''-C), 78.1(5'''-C), 61.8(6'''-C)

22-O- α -L-arabinopyranosyl moiety; δ 108.0(1''''-C), 71.9(2''''-C), 83.0(3''''-C), 68.2(4''''-C), 67.0(5''''-C)

3''''-O- β -D-xylopyranosyl moiety; δ 102.6(1'''''-C), 73.7(2'''''-C), 70.6(3'''''-C), 71.6(4'''''-C), 62.0(5'''''-C), 170.4, 170.9(2'''''' および 4''''''-C=O), 21.6, 21.8(2'''''' および 4''''''-CH₃)

但し、¹³C-NMRにおいてはサンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの化学シフト値を 40.2 ppm として表した。図 15 に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション 13 の ¹³C-NMR スペクトルを示す。図 15 において、横軸は化学シフト値、縦軸はシグナルの強度を示す。

【0076】

大豆胚芽水抽出物由来フラクション 13 を実施例 2-(1) と同様の方法で加水分解に処し、糖成分と非糖成分を生じさせた。非糖部分について薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 A) を行った結果、Soyasapogenol A と同じ R_f 値を有するスポットを検出した。糖成分について薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 B) を行った結果、アラビノース、グルコース、キシロース、ガラクトースを検出した。

【0077】

以上の結果より、大豆胚芽水抽出物由来フラクション 13 が 3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-22-O-[2,4-di-O-acetyl- β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl]soyasapogenol A (分子量 1322) であることを確定した。なお、当該化合物は上記表 1 における化合物 e である。

【0078】

(2) 化合物 e の NGF 産生増強活性を実施例 2-(2) と同様の方法で測定した。その結果、化合物 e に NGF 産生増強活性があることが明らかになった。表 2 にその結果を示す。なお、コントロールの NGF 産生量は 0.578 ng/

ml であった。

【0079】

実施例 7 3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-22-O-[3,4-di-O-acetyl- β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl]soyasapogenol A の N G F 産生増強活性

(1) 実施例 1-(6) で分画した大豆胚芽水抽出物由来フラクション 15 (保持時間 40.3 分の検出のピークを含むフラクション) の質量スペクトルを実施例 2-(1) と同様の方法で測定した。マトリックスには m-ニトロベンジルアルコールを用いた。質量分析により m/z 1321 (M-H)⁻ のピークを検出した。図 16 に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション 15 の質量スペクトルを示す。図 16 において、横軸は m/z 値、縦軸は相対強度を示す。

【0080】

大豆胚芽水抽出物由来フラクション 15 の NMR スペクトルを実施例 2-(1) と同様の方法で測定した。NMR の帰属の信号を以下に示す。

【0081】

¹H-NMR:

sapogenol moiety; δ 3.27 (1H, m, 3-H), 5.14 (1H, br-s, 12-H), 3.39 (1H, m, 21-H), 3.24 (1H, br-s, 22-H), 3.14 (1H, m, 24-H), 3.85 (1H, m, 24-H)

3-O- β -D-glucuronopyranosyl moiety; δ 4.45 (1H, d, J=7.8 Hz, 1'-H), 3.43 (1H, m, 2'-H), 3.56 (1H, t, J=8.9 Hz, 3'-H), 3.34 (1H, t, J=8.9 Hz, 4'-H), 3.66 (1H, m, 5'-H)

2'-O- β -D-galactopyranosyl moiety; δ 4.80 (1H, d, J=6.6 Hz, 1''-H), 3.51 (1H, m, 2''-H), 3.51 (1H, m, 3''-H), 3.65 (1H, m, 4''-H), 3.38 (1H, m, 5''-H), 3.50 (2H, m, 6''-H)

2''-O- β -D-glucopyranosyl moiety; δ 4.37 (1H, d, J=7.8 Hz, 1'''-H), 3.02 (1H, dd, J=7.8, 9.0 Hz, 2'''-H), 3.17 (1H, t, J=9.0 Hz, 3'''-H), 3.08 (1H, t, J=9.0 Hz, 4'''-H), 3.15 (1H, m, 5'''-H), 3.47 (1H, m, 6'''-H), 3.72 (1H, m, 6'''-H)

22-O- α -L-arabinopyranosyl moiety; δ 4.22 (1H, d, J=4.8 Hz, 1''''-H), 3.46 (1H, m, 2''''-H), 3.42 (1H, m, 3''''-H), 3.74 (1H, m, 4''''-H), 3.39 (1H, m, 5''''-H), 3.63 (1H, m, 5''''-H)

3''''-O- β -D-xylopyranosyl moiety; δ 4.58(1H, d, $J=7.2$ Hz, 1''''-H), 3.38(1H, m, 2''''-H), 4.97(1H, t, $J=9.3$ Hz, 3''''-H), 4.72(1H, m, 4''''-H), 3.88(1H, m, 5''''-H), 3.36(1H, m, 5''''-H), 2.01, 1.96(3H, s, 3'''' および 4''''-CH₃)

但し、¹H-NMRにおいてはサンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの残留プロトンの化学シフト値を 2.51 ppm として表した。図 17 に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション 15 の ¹H-NMR スペクトルを示す。図 17 において、横軸は化学シフト値、縦軸はシグナルの強度を示す。

【0082】

¹³C-NMR: δ

sapogenol moiety; δ 90.3(3-C), 122.5(12-C), 144.4(13-C), 75.0(21-C), 92.3(22-C), 62.6(24-C)

3-O- β -D-glucronopyranosyl moiety; δ 104.1(1'-C), 78.8(2'-C), 76.5(3'-C), 72.0(4'-C), 76.1(5'-C), 171.0(6'-C)

2'-O- β -D-galactopyranosyl moiety; δ 101.5(1''-C), 82.7(2''-C), 73.4(3''-C), 69.0(4''-C), 75.5(5''-C), 60.9(6''-C)

2''-O- β -D-glucopyranosyl moiety; δ 105.3(1'''-C), 75.5(2'''-C), 76.5(3'''-C), 70.6(4'''-C), 78.1(5'''-C), 61.8(6'''-C)

22-O- α -L-arabinopyranosyl moiety; δ 107.4(1''''-C), 72.0(2''''-C), 83.7(3''''-C), 68.3(4''''-C), 67.0(5''''-C)

3''''-O- β -D-xylopyranosyl moiety; δ 105.3(1''''-C), 72.0(2''''-C), 74.2(3''''-C), 69.9(4''''-C), 62.6(5''''-C), 171.0, 170.7(3'''' および 4''''-CH₃)

但し、¹³C-NMRにおいてはサンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの化学シフト値を 40.2 ppm として表した。図 18 に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション 15 の ¹³C-NMR スペクトルを示す。図 18 において、横軸は化学シフト値、縦軸はシグナルの強度を示す。

【0083】

大豆胚芽水抽出物由来フラクション 15 を実施例 2-(1) と同様の方法で加

水分解に処し、糖成分と非糖成分を生じさせた。非糖部分について薄層クロマトグラフィー（展開溶媒A）を行った結果、Soyasapogenol Aと同じRf値を有するスポットを検出した。糖成分について薄層クロマトグラフィー（展開溶媒B）を行った結果、アラビノース、グルコース、キシロース、ガラクトースを検出した。

【0084】

その結果から、大豆胚芽水抽出物由来フラクション15が3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-22-O-[3,4-di-O-acetyl- β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl]soyasapogenol A（分子量1322）であることを確定した。なお、当該化合物は上記表1における化合物fである。

【0085】

(2) 化合物fのNGF産生増強活性を実施例2-(2)と同様の方法で測定した。その結果、化合物fにNGF産生増強活性があることが明らかになった。表2にその結果を示す。なお、コントロールのNGF産生量は0.578 ng/mlであった。

【0086】

実施例8 3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-22-O-[3,4,6-tri-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl]soyasapogenol AのNGF産生増強活性

(1) 実施例1-(6)で分画した大豆胚芽水抽出物由来フラクション16（保持時間41.0分の検出のピークを含むフラクション）の質量スペクトルを実施例2-(1)と同様の方法で測定した。マトリックスにはm-ニトロベンジルアルコールを用いた。質量分析によりm/z 1393 (M-H)⁻のピークを検出した。図19に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション16の質量スペクトルを示す。図19において、横軸はm/z値、縦軸は相対強度を示す。

【0087】

大豆胚芽水抽出物由来フラクション16のNMRスペクトルを実施例2-(1)と同様の方法で測定した。NMRの帰属の信号を以下に示す。

【0088】

 ^1H -NMR:

sapogenol moiety; δ 3.28 (1H, m, 3-H), 5.15 (1H, br-s, 12-H), 3.40 (1H, m, 21-H), 3.25 (1H, br-s, 22-H), 3.15 (1H, m, 24-H), 3.87 (1H, m, 24-H)

3-O- β -D-glucronopyranosyl moiety; δ 4.45 (1H, d, 1'-H), 3.44 (1H, m, 2'-H), 3.57 (1H, m, 3'-H), 3.32 (1H, m, 4'-H), 3.62 (1H, m, 5'-H)

2'-O- β -D-galactopyranosyl moiety; δ 4.82 (1H, d, 1''-H), 3.51 (1H, m, 2''-H), 3.51 (1H, m, 3''-H), 3.65 (1H, m, 4''-H), 3.38 (1H, m, 5''-H), 3.50 (2H, m, 6''-H)

2''-O- β -D-glucopyranosyl moiety; δ 4.38 (1H, d, $J=7.8$ Hz, 1'''-H), 3.02 (1H, m, 2'''-H), 3.17 (1H, m, 3'''-H), 3.09 (1H, m, 4'''-H), 3.14 (1H, m, 5'''-H), 3.47 (1H, m, 6'''-H), 3.72 (1H, m, 6'''-H)

22-O- α -L-arabinopyranosyl moiety; δ 4.25 (1H, d, 1''''-H), 3.59 (1H, m, 2''''-H), 3.52 (1H, m, 3''''-H), 3.78 (1H, m, 4''''-H), 3.42 (1H, m, 5''''-H), 3.66 (1H, m, 5''''-H)

3''''-O- β -D-glucopyranosyl moiety; δ 4.67 (1H, d, $J=7.8$ Hz, 1'''''-H), 3.41 (1H, dd, $J=7.8, 9.3$ Hz, 2'''''-H), 5.03 (1H, t, $J=9.3$ Hz, 3'''''-H), 4.77 (1H, t, $J=9.3$ Hz, 4'''''-H), 3.87 (1H, m, 5'''''-H), 3.97 (1H, m, 6'''''-H), 4.17 (1H, m, 6'''''-H), 1.96, 1.99 (3H および 6H, s, 3''''', 4''''', および 6'''''-CH₃)

但し、 ^1H -NMRにおいてはサンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの残留プロトンの化学シフト値を2.51 ppmとして表した。図20に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション16の ^1H -NMRスペクトルを示す。図20において、横軸は化学シフト値、縦軸はシグナルの強度を示す。

【0089】

 ^{13}C -NMR:

sapogenol moiety; δ 90.3 (3-C), 122.5 (12-C), 144.4 (13-C), 75.0 (21-C), 92.4 (22-C), 63.0 (24-C)

3-O- β -D-glucronopyranosyl moiety; δ 104.1 (1'-C), 78.8 (2'-C), 76.6 (3'-C), 72

.0(4'-C), 76.0(5'-C), 171.0(6'-C)
 2'-O-β-D-galactopyranosyl moiety; δ 101.5(1''-C), 82.8(2''-C), 73.2(3''-C),
 69.0(4''-C), 75.7(5''-C), 60.9(6''-C)
 2''-O-β-D-glucopyranosyl moiety; δ 105.3(1'''-C), 75.5(2'''-C), 76.7(3'''-C),
 70.6(4'''-C), 78.1(5'''-C), 61.8(6'''-C)
 22-O-α-L-arabinopyranosyl moiety; δ 107.4(1''''-C), 71.6(2''''-C), 84.4(3''''-C),
 68.3(4''''-C), 67.0(5''''-C)
 3''''-O-β-D-glucopyranosyl moiety; δ 104.7(1'''''-C), 72.2(2'''''-C), 75.0(3'''''-C),
 69.4(4'''''-C), 71.3(5'''''-C), 62.8(6'''''-C), 170.3, 170.5, 171.1(3''''',
 4''''', および 6'''''-C=O), 21.3, 21.4, 21.5(3''''', 4''''', および 6'''''-CH₃)

但し、¹³C-NMRにおいてはサンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの化学シフト値を40.2 ppmとして表した。図21に、大豆胚芽水抽出物由来フラクション16の¹³C-NMRスペクトルを示す。図21において、横軸は化学シフト値、縦軸はシグナルの強度を示す。

【0090】

大豆胚芽水抽出物由来フラクション16を実施例2-(1)と同様の方法で加水分解に処し、糖成分と非糖成分を生じさせた。非糖部分について薄層クロマトグラフィー(展開溶媒A)を行った結果、Soyasapogenol Aと同じR_f値を有するスポットを検出した。糖成分について薄層クロマトグラフィー(展開溶媒B)を行った結果、アラビノース、グルコース、ガラクトースを検出した。

【0091】

以上の結果から、大豆胚芽水抽出物由来フラクション16が3-O-[β-D-glucopyranosyl(1→2)-β-D-galactopyranosyl-(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-22-O-[3,4,6-tri-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl(1→3)-α-L-arabinopyranosyl]soyasapogenol A(分子量1394)であることを確定した。なお、当該化合物は上記表1における化合物gである。

【0092】

(2) 化合物 g の NGF 産生増強活性を実施例 2-(2) と同様の方法で測定した。その結果、化合物 g に NGF 産生増強活性があることが明らかになった。表 2 にその結果を示す。なお、コントロールの NGF 産生量は 0.739 ng/ml であった。

【0093】

実施例 9 3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-22-O-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl]soyasapogenol A の NGF 産生増強活性

(1) 実施例 1-(6) で分画した大豆胚芽水抽出物由来フラクション 18 (保持時間 42.7 分の検出のピークを含むフラクション) の質量スペクトル、NMR スペクトル、糖部分及び非糖部分の薄層クロマトグラフィーを実施例 2-(1) と同様の方法で測定した。その結果、大豆胚芽水抽出物由来フラクション 18 が 3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-22-O-[2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl]soyasapogenol A (分子量 1436) であることを確定した。なお、当該化合物は上記表 1 における化合物 h である。

【0094】

(2) 化合物 h の NGF 産生増強活性を実施例 2-(2) と同様の方法で測定した。その結果、化合物 h に NGF 産生増強活性があることが明らかになった。表 2 にその結果を示す。なお、コントロールの NGF 産生量は 0.898 ng/ml であった。

【0095】

実施例 10 大豆胚芽 70% エタノール抽出物由来フラクションの分画

(1) 実施例 1-(1) で得られた沈殿 2 (5.6 kg) に 8.4 リットルのエタノールを加え、室温、1 時間攪拌した後、5000 g にて 10 分間遠心分離を行ない、沈殿 6 ならびに上清 6 を得た。沈殿 6 に 70% エタノール 10 リットルを加えて 1 時間攪拌した後、5000 g にて 10 分間遠心分離を行ない、沈殿 7 ならびに上清 7 を得た。上清 6 および上清 7 を混合して減圧濃縮し、大豆胚芽 70% エタノール抽出濃縮物を得た。

【0096】

(2) 実施例10-(1)で得られた大豆胚芽70%エタノール抽出濃縮物を500mlの70%エタノールに溶解した後、5000gにて10分間遠心分離を行ない、沈殿8ならびに上清8を得た。上清8を減圧濃縮後、1000mlの蒸留水に懸濁し、ろ過後の残さを大豆胚芽70%エタノール抽出物由来水不溶性画分として得た。

【0097】

(3) 実施例10-(2)で得られた大豆胚芽70%エタノール抽出物由来水不溶性画分の0.4容を2mlメタノール、10mlクロロホルムからなる溶媒に溶解し、シリカカラムを用いた分画を行なった。以下にその条件について示す。シリカゲルにはBW-300SP(樹脂量300ml)を用いた。展開溶媒としてクロロホルム:メタノール:酢酸=100:20:1(400ml)、クロロホルム:メタノール=2:1(400ml)、エタノール:水=10:1(200ml)の順に溶出を行ない、画分1~10まで100mlごとに画分を回収した。各溶出画分を減圧濃縮し、70%エタノール抽出物由来シリカカラム画分1~10を得た。

【0098】

(4) 実施例10-(3)で得られた70%エタノール抽出物由来シリカカラム画分4、5を合わせて濃縮後、エタノール12mlに溶解し、ついで逆相クロマトグラフィーを用いて分画した。以下にその条件について述べる。カラムはTSK gel ODS-80Ts(21.5mm×30cm)を用いた。溶媒A(蒸留水とアセトニトリルを容量比3対1で混合したもの)と溶媒B(蒸留水とアセトニトリルを容量比1対3で混合したもの)の溶出比は0~25分までは溶媒B比を直線的に40~70%に、つづく25~26分までは溶媒B比を直線的に70~100%に、つづく5分間は溶媒B比を100%に保持した。溶出速度は5ml/分、検出は215nmで行なった。溶出液の紫外線吸収を指標に、大豆胚芽70%エタノール抽出物由来フラクション1~10を分画した。

【0099】

実施例11 3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-

β -D-glucuronopyranosyl]-soyasapogenol BのNGF産生増強活性

(1) 実施例10-(4)で分画した大豆胚芽70%エタノール抽出物由来フラクション6(保持時間24.8分の検出のピークを含むフラクション)の質量スペクトル、NMRスペクトルを実施例2-(1)と同様の方法で行った。また、大豆胚芽70%エタノール抽出物由来フラクション6を2M トリフルオロ酢酸:2N HCl(1:1)の混液にて気相下、100℃、4時間加温し、糖成分と非糖成分を生じさせた。非糖部分について薄層クロマトグラフィー(展開溶媒A)を行った結果、Soyasapogenol Bと同じRf値を有するスポットを検出した。糖成分について薄層クロマトグラフィー(展開溶媒B)を行った結果、グルコース、ガラクトースを検出した。その結果、大豆胚芽70%エタノール抽出物由来フラクション6が3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-soyasapogenol B(分子量958)であることを確定した。なお、当該化合物は上記表1における化合物iである。

【0100】

(2) 化合物iのNGF産生増強活性を実施例2-(2)と同様の方法で測定した。その結果、化合物iにNGF産生増強活性があることが明らかになった。表2にその結果を示す。なお、コントロールのNGF産生量は0.948 ng/mlであった。

【0101】

実施例12 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-soyasapogenol BのNGF産生増強活性

(1) 実施例10-(4)で分画した大豆胚芽70%エタノール抽出物由来フラクション7(保持時間27.4分の検出のピークを含むフラクション)の質量スペクトル、NMRスペクトル、糖部分及び非糖部分の薄層クロマトグラフィーを実施例11-(1)と同様の方法で測定した。その結果、大豆胚芽70%エタノール抽出物由来フラクション7が3-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-soyasapogenol B(分子量942)であることを確定した。なお、当該化合物は上記表1における化合物jで

ある。

【0102】

(2) 化合物 j の NGF 産生増強活性を実施例 2 - (2) と同様の方法で測定した。その結果、化合物 j に NGF 産生増強活性があることが明らかになった。表 2 にその結果を示す。なお、コントロールの NGF 産生量は 0.948 ng/ml であった。

【0103】

実施例 13 3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-soyasapogenol E の NGF 産生増強活性

(1) 実施例 10 - (4) で分画した大豆胚芽 70% エタノール抽出物由来フラクション 8 (保持時間 29.3 分の検出のピークを含むフラクション) の質量スペクトル、NMR スペクトル、糖部分及び非糖部分の薄層クロマトグラフィーを実施例 11 - (1) と同様の方法で測定した。その結果、大豆胚芽 70% エタノール抽出物由来フラクション 8 が 3-O-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-soyasapogenol E (分子量 956) であることを確定した。なお、当該化合物は上記表 1 における化合物 k である。

【0104】

(2) 化合物 k の NGF 産生増強活性を実施例 2 - (2) と同様の方法で測定した。その結果、化合物 k に NGF 産生増強活性があることが明らかになった。表 2 にその結果を示す。なお、コントロールの NGF 産生量は 0.924 ng/ml であった。

【0105】

実施例 14 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-soyasapogenol E の NGF 産生増強活性

(1) 実施例 10 - (4) で分画した大豆胚芽 70% エタノール抽出物由来フラクション 9 (保持時間 31.7 分の検出のピークを含むフラクション) の質量スペクトル、NMR スペクトル、糖部分及び非糖部分の薄層クロマトグラフィーを実施例 11 - (1) と同様の方法で測定した。その結果、大豆胚芽 70% エタノール抽出物由来フラクション 9 が 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-gal

actopyranosyl-(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-soyasapogenol E (分子量940)であることを確定した。なお、当該化合物は上記表1における化合物1である。

【0106】

(2) 化合物1のNGF産生増強活性を実施例2-(2)と同様の方法で測定した。その結果、化合物1にNGF産生増強活性があることが明らかになった。表2にその結果を示す。なお、コントロールのNGF産生量は0.924 ng/mlであった。

【0107】

実施例15 3-O-[β-D-glucopyranosyl(1→2)-β-D-galactopyranosyl-(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-22-O-[2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-xylopyranosyl(1→3)-α-L-arabinopyranosyl]soyasapogenol AのNGF産生増強活性

(1) 実施例10-(3)で得られた大豆胚芽70%エタノール抽出物由来シリカカラム画分3をエタノール5mlに溶解し、ついで逆相クロマトグラフィーを用いて分画した。以下にその条件について述べる。カラムはTSK gel ODS-80Ts (21.5mm×30cm)を用いた。溶媒A(蒸留水とアセトニトリルを容量比3対1で混合したもの)と溶媒B(蒸留水とアセトニトリルを容量比1対3で混合したもの)の溶出比は0~15分までは溶媒B比を直線的に40~45%に、つづく15~20分までは溶媒B比を直線的に45~100%に、つづく5分間は溶媒B比を100%に保持した。溶出速度は5ml/分、検出は215nmで行なった。溶出液の紫外線吸収を指標に、フラクションを分画した。

【0108】

(2) 実施例15-(1)で分画した大豆胚芽70%エタノール抽出物由来フラクションA(保持時間19.5分の検出のピークを含む)の質量スペクトル、NMRスペクトル、糖部分及び非糖部分の薄層クロマトグラフィーを実施例11-(1)と同様の方法で測定した。その結果、大豆胚芽70%エタノール抽出物由来フラクションAが3-O-[β-D-glucopyranosyl(1→2)-β-D-galactopyranosyl-(1→2)-β-D-glucuronopyranosyl]-22-O-[2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-xylopyran

osyl(1→3)- α -L-arabinopyranosyl]soyasapogenol A (分子量 1364) であることを確定した。なお、当該化合物は上記表 1 における化合物 m である。

【0109】

(3) 化合物 m の NGF 産生増強活性を実施例 2-(2) と同様の方法で測定した。その結果、化合物 m に NGF 産生増強活性があることが明らかになった。表 2 にその結果を示す。なお、コントロールの NGF 産生量は 0.898 ng/ml であった。

【0110】

【表 2】

表 2

本発明の化合物	NGF 産生量 (%)			
	試料濃度 (mM)			
	0	0.5	1.0	2
化合物 a	100	228.3	231.6	212.6
化合物 b	100	220.9	251.2	272.3
化合物 c	100	255.1	289.2	323.7
化合物 d	100	255.8	281.1	276.5
化合物 e	100	214.0	233.7	230.1
化合物 f	100	204.5	208.8	218.5
化合物 g	100	295.4	277.2	247.6
化合物 h	100	273.3	301.7	307.2
化合物 i	100	N. T.	116.8	169.4
化合物 j	100	138.2	176.4	212.5
化合物 k	100	N. T.	115.9	456.3
化合物 l	100	N. T.	145.9	531.2
化合物 m	100	263.3	250.9	233.4

試料無添加の NGF 産生量を 100% として、試料添加区の NGF 産生量を % で示す

N. T. は試験していないことを示す

【0111】

実施例 16 13(18)-oleanene-3,22,24-triol の NGF 産生増強活性

(1) 実施例 10-(2) で得た大豆胚芽 70% エタノール抽出物由来水不溶性画分の 0.04 容について、50% メタノール、2N 塩酸、80℃ の条件下で 3 時間加熱を行った。次に反応液と等量のジエチルエーテルで計 3 回抽出し、得られたエーテル層を減圧濃縮して白色粉末を得た。得られた白色粉末をヘキサンで洗浄し、大豆胚芽・酸加水分解物を得た。

【0112】

(2) 実施例 16-(1) で得られた大豆胚芽・酸加水分解物をクロロホルムに溶解し、シリカクロマトを用いて分画した。以下にその条件について示す。シリカゲルには BW-300SP (樹脂量 100ml) を用いた。展開溶媒としてクロロホルム：メタノール=100：1 を用いて溶出を行ない、大豆胚芽・酸加水分解物由来シリカカラム画分 1 (550ml)、画分 2 (300ml)、画分 3 (250ml) の順に溶出画分を得た。

【0113】

(3) 実施例 16-(2) で得られた大豆胚芽・酸加水分解物由来シリカカラム画分 2 を 4ml のエタノールに溶解し、逆相クロマトグラフィーを用いて分画した。以下にその条件について述べる。カラムは TSK gel ODS-80Ts (21.5mm×30cm) を用いた。溶媒には水とアセトニトリルを容量比 1：9 で混合したものを用い、溶出速度は 5ml/分、検出は 215nm で行なった。溶出液の紫外線吸収を指標に、大豆胚芽・酸加水分解物由来フラクションを分画した。

【0114】

(4) 実施例 16-(3) で分画した大豆胚芽・酸加水分解物由来フラクション a (溶出時間 37.5 分のピークを含むフラクション) の質量スペクトルを実施例 2-(1) と同様の方法で測定した。マトリックスにはトリエタノールアミンを用いた。質量分析により m/z 457 (M-H)⁻ のピークを検出した。図 22 に、大豆胚芽・酸加水分解物由来フラクション a の質量スペクトルを示す。図 22 において、横軸は m/z 値、縦軸は相対強度を示す。

【0115】

大豆胚芽・酸加水分解物由来フラクション a の NMR スペクトルを実施例 2-(1) と同様の方法で測定した。NMR の帰属の信号を以下に示す。

【0116】

^1H -NMR: δ 0.70, 0.92 (3H, s, 29 および 30-CH₃), 0.77 (1H, m, 5-H), 0.79 (3H, s, 26-CH₃), 0.81 (3H, s, 25-CH₃), 0.88 (3H, s, 28-CH₃), 0.96 (1H, m, 1-H), 1.07 (1H, m, 15-H), 1.08 (3H, s, 23-CH₃), 1.12 (3H, s, 27-CH₃), 1.16 (1H, dd, $J=4.8, 13.8$ Hz, 11-H), 1.25 (1H, m, 16-H), 1.27 (1H, m, 21-H), 1.32 (1H, m, 6-H), 1.34 (1H, m, 21-H), 1.34 (1H, m, 7-H), 1.37 (1H, m, 7-H), 1.43 (1H, m, 9-H), 1.45 (1H, m, 11-H), 1.55 (1H, m, 6-H), 1.56 (1H, m, 2-H), 1.61 (1H, m, 15-H), 1.62 (1H, m, 19-H), 1.64 (1H, m, 2-H), 1.65 (1H, m, 1-H), 1.68 (1H, m, 16-H), 1.80 (1H, m, 12-H), 2.24 (1H, d, $J=13.8$ Hz, 19-H), 2.61 (1H, br-d, $J=12.6$ Hz, 12-H), 3.12 (1H, m, 22-H), 3.19 (1H, m, 3-H), 3.26 (1H, dd, $J=7.8, 10.8$ Hz, 24-H), 3.80 (1H, dd, $J=2.4, 10.8$ Hz, 24-H), 4.06 (1H, dd, $J=2.4, 7.8$ Hz, 24-OH), 4.26 (1H, d, $J=4.8$ Hz, 22-OH), 4.95 (1H, d, $J=4.2$ Hz, 3-OH)

但し、 ^1H -NMR においてはサンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの残留プロトンの化学シフト値を 2.51 ppm として表した。図 23 に、大豆胚芽・酸加水分解物由来フラクション a の ^1H -NMR スペクトルを示す。図 23 において、横軸は化学シフト値、縦軸はシグナルの強度を示す。

【0117】

^{13}C -NMR: δ 17.3 (25-C), 17.4 (28-C), 18.1 (26-C), 19.6 (6-C), 22.1 (27-C), 22.4 (11-C), 23.8 (23-C), 25.8, 33.1 (29 および 30-C), 26.1 (12-C), 26.6 (15-C), 28.2 (2-C), 32.7 (20-C), 34.0 (16-C), 35.8 (7-C), 37.5 (10-C), 38.6 (19-C), 39.3 (1-C), 40.9 (17-C), 41.5 (8-C), 43.1 (4-C), 44.7 (14-C), 44.8 (21-C), 51.0 (9-C), 56.3 (5-C), 63.8 (24-C), 76.6 (22-C), 79.5 (3-C), 133.0 (18-C), 136.9 (13-C)

但し、 ^{13}C -NMR においてはサンプルは重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの化学シフト値を 40.2 ppm として表した。図 24 に、大豆胚芽・酸加水分解物由来フラクション a の ^{13}C -NMR スペクトルを示す。図 24 において、横軸は化学シフト値、縦軸はシグナルの強度を示す。

【0118】

以上、大豆胚芽・酸加水分解物由来フラクション a について行った MS スペクトル、NMR スペクトル解析の結果、大豆胚芽・酸加水分解物由来フラクション a が 13(18)-oleanene-3,22,24-triol (分子量 458) であることが確定した。なお、当該化合物は上記表 1 における化合物 n である。

【0119】

(5) 化合物 n の NGF 産生増強活性を実施例 2-(2) と同様の方法で測定した。添加量は最終濃度を表 3 に示す通り添加した。その結果、化合物 n に NGF 産生増強活性があることが明らかになった。表 3 にその結果を示す。なお、コントロールの NGF 産生量は 0.372 ng/ml であった。

【0120】

【表 3】

表 3

本発明の化合物	NGF 産生量 (%)		
	試料濃度 (mM)		
	0	2.5	5.0
化合物 n	100	197.9	522.6

試料無添加の NGF 産生量を 100% とし、試料添加区の NGF 産生誘導量を % で示す

【0121】

【発明の効果】

本発明により、食用植物由来の安全なサポニン類化合物またはその塩を高含有する医薬、飲食品、飼料が提供される。これらはその NGF 産生誘導作用により脳神経系疾患の治療、予防、症状改善に有用である。特に飲食品は日常的にサポニン類化合物の一定量を摂取することを可能にし、生体の恒常性維持用飲食品、NGF 産生誘導用飲食品として極めて有用である。

【図面の簡単な説明】

【図 1】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 7 の質量スペクトルを示す図である。

【図 2】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 7 の ^1H -NMR スペクトルを示す図である。

【図 3】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 7 の ^{13}C -NMR スペクトルを示す図である。

【図 4】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 9 の質量スペクトルを示す図である。

【図 5】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 9 の ^1H -NMR スペクトルを示す図である。

【図 6】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 9 の ^{13}C -NMR スペクトルを示す図である。

【図 7】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 10 の質量スペクトルを示す図である。

【図 8】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 10 の ^1H -NMR スペクトルを示す図である。

【図 9】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 10 の ^{13}C -NMR スペクトルを示す図である。

【図 10】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 12 の質量スペクトルを示す図である。

【図 11】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 12 の ^1H -NMR スペクトルを示す図である。

【図 12】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 12 の ^{13}C -NMR スペクトルを示す図である。

【図 13】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 13 の質量スペクトルを示す図である。

【図 14】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 13 の ^1H -NMR スペクトルを示す図である。

【図 15】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 13 の ^{13}C -NMR スペクトルを示す図である。

【図 16】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 15 の質量スペクトルを示す図である。

す図である。

【図 17】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 15 の ^1H -NMR スペクトルを示す図である。

【図 18】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 15 の ^{13}C -NMR スペクトルを示す図である。

【図 19】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 16 の質量スペクトルを示す図である。

【図 20】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 16 の ^1H -NMR スペクトルを示す図である。

【図 21】 大豆胚芽水抽出物由来フラクション 16 の ^{13}C -NMR スペクトルを示す図である。

【図 22】 大豆胚芽・酸加水分解物由来フラクション a の質量スペクトルを示す図である。

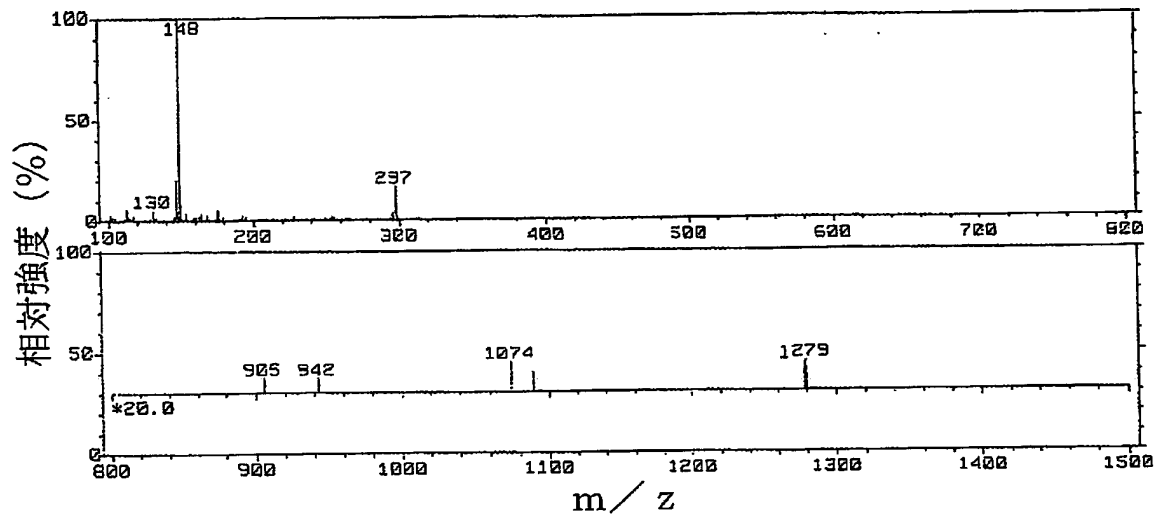
【図 23】 大豆胚芽・酸加水分解物由来フラクション a の ^1H -NMR スペクトルを示す図である。

【図 24】 大豆胚芽・酸加水分解物由来フラクション a の ^{13}C -NMR スペクトルを示す図である。

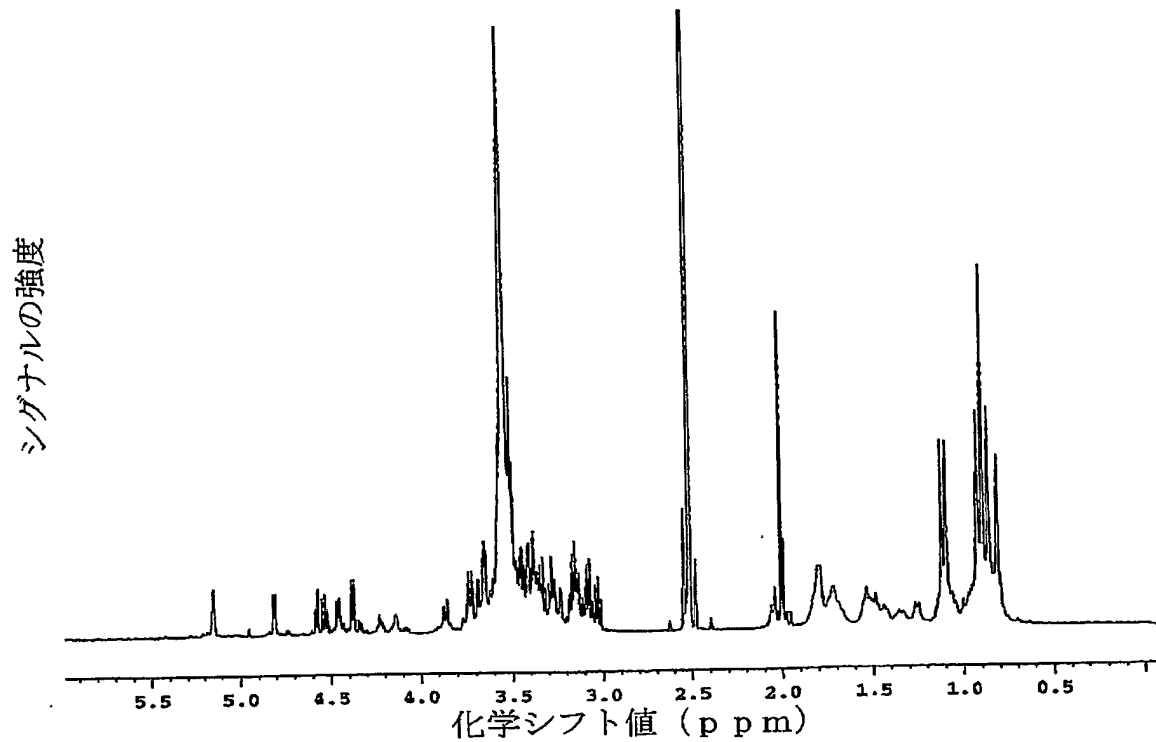
【書類名】

図面

【図 1】

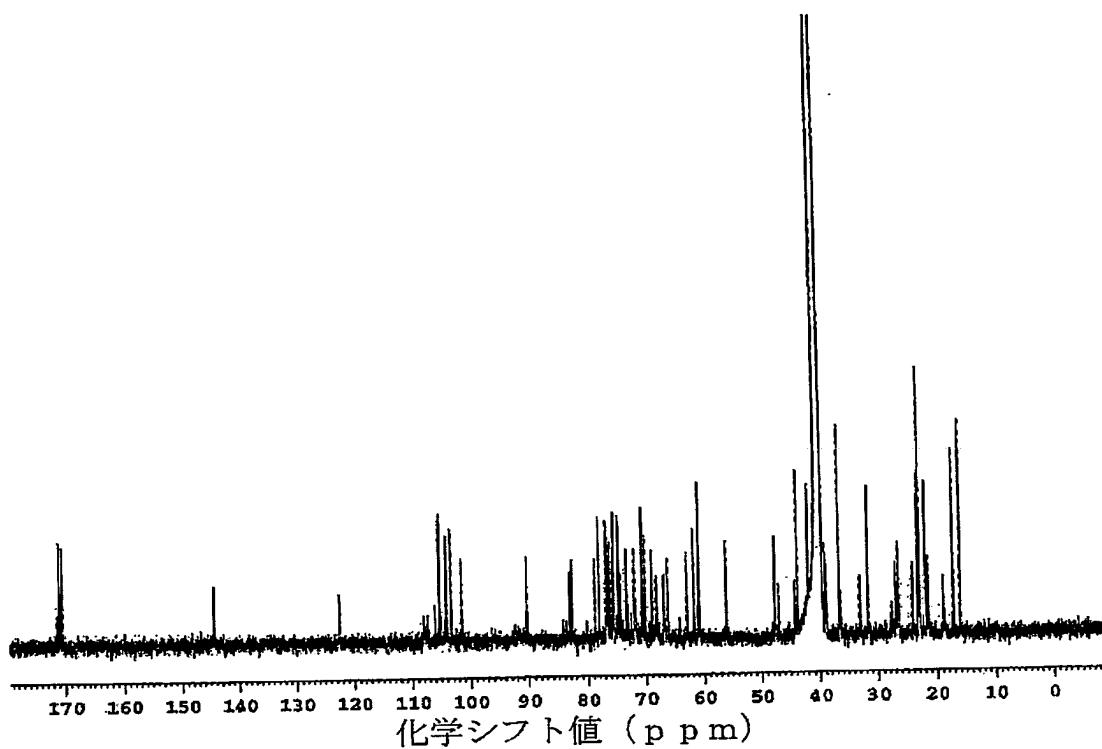


【図 2】

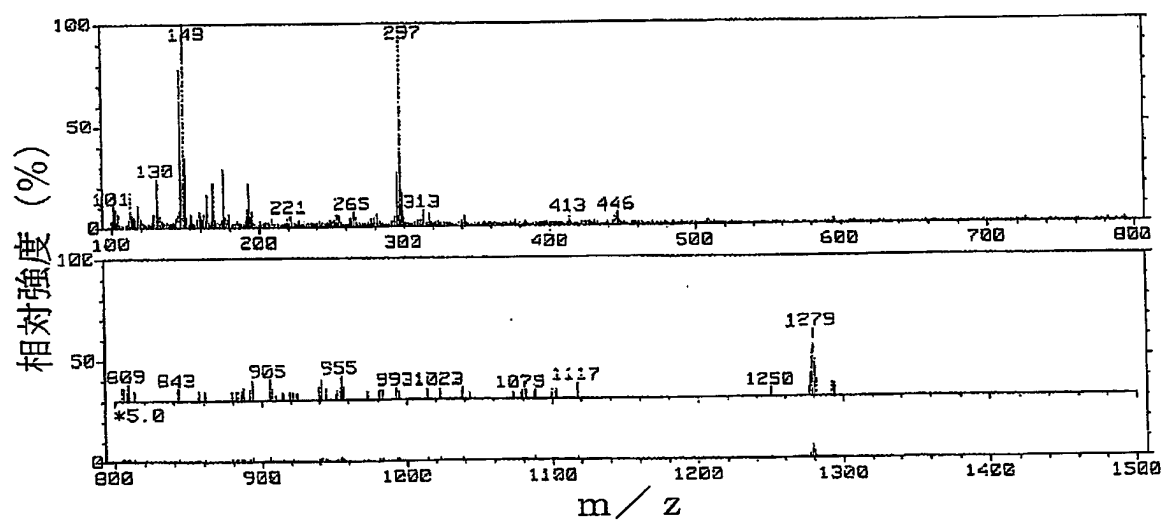


【図 3】

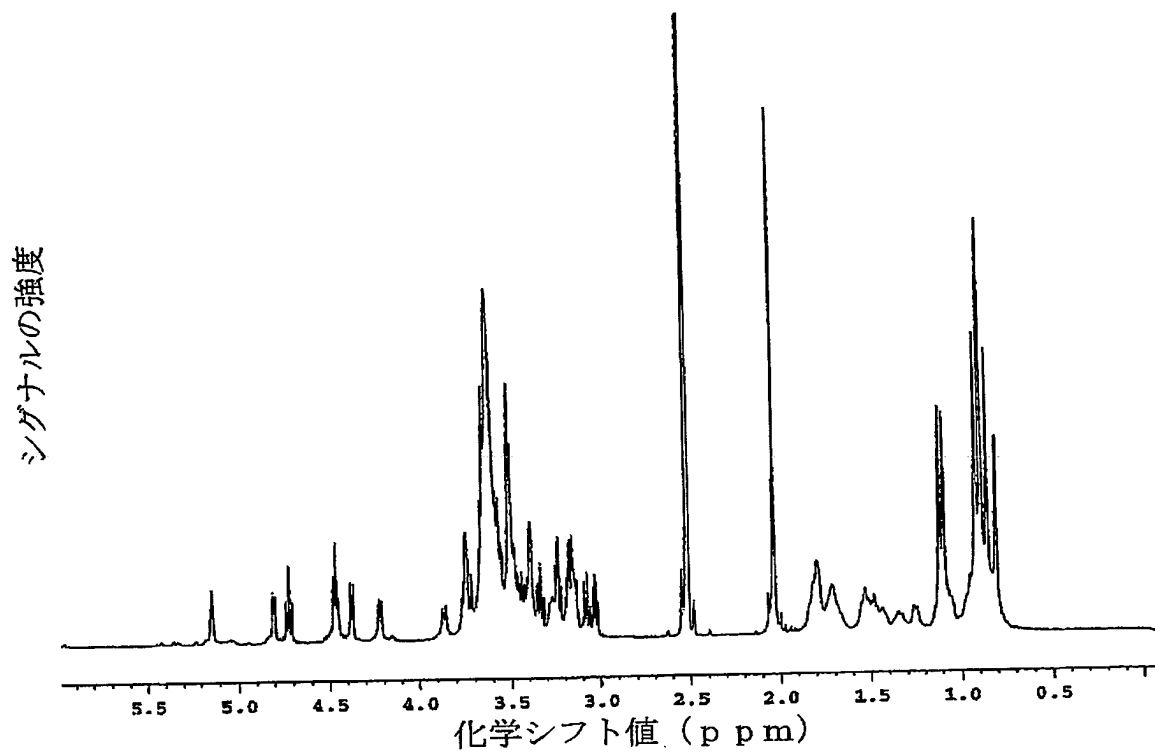
シグナルの強度



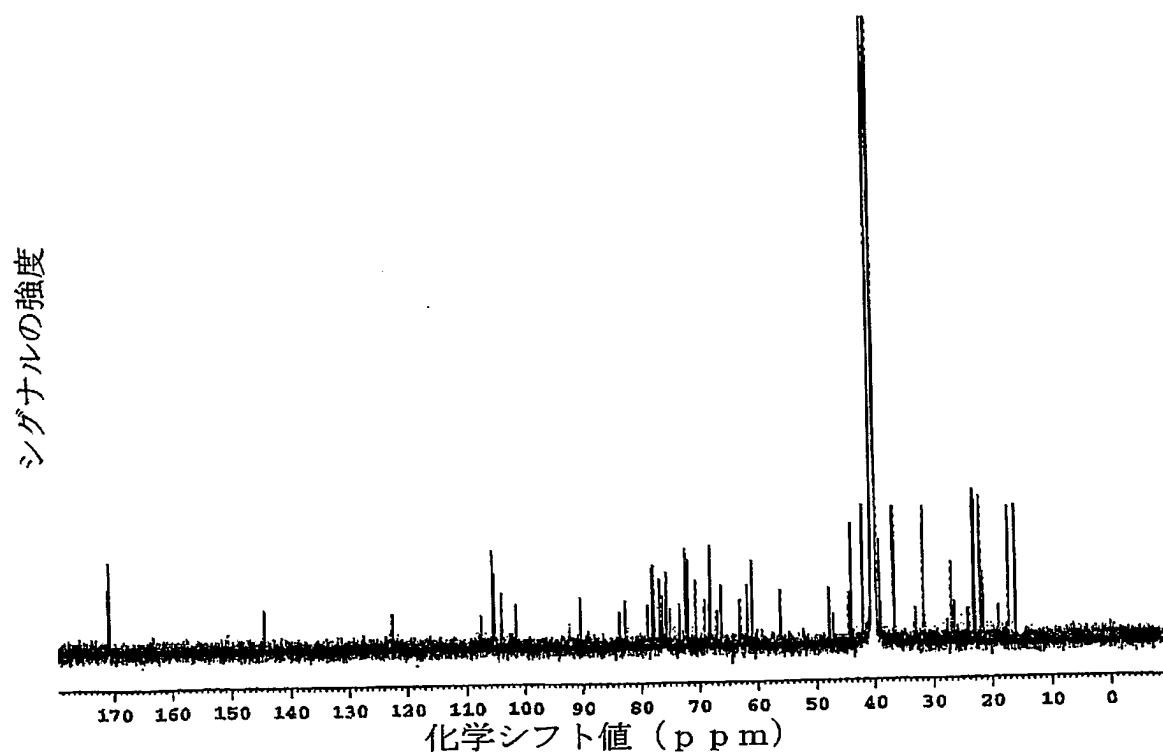
【図 4】



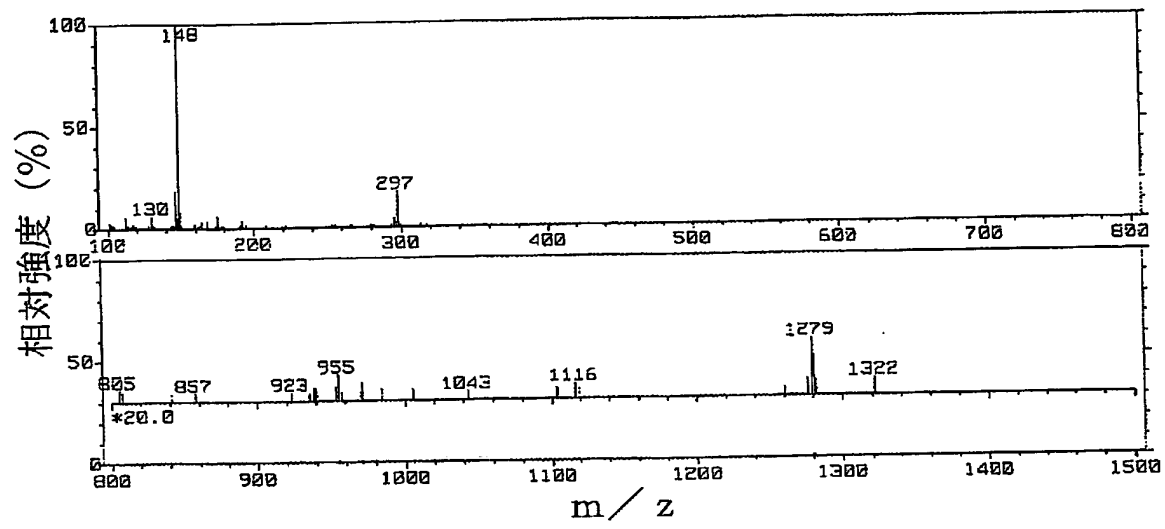
【図 5】



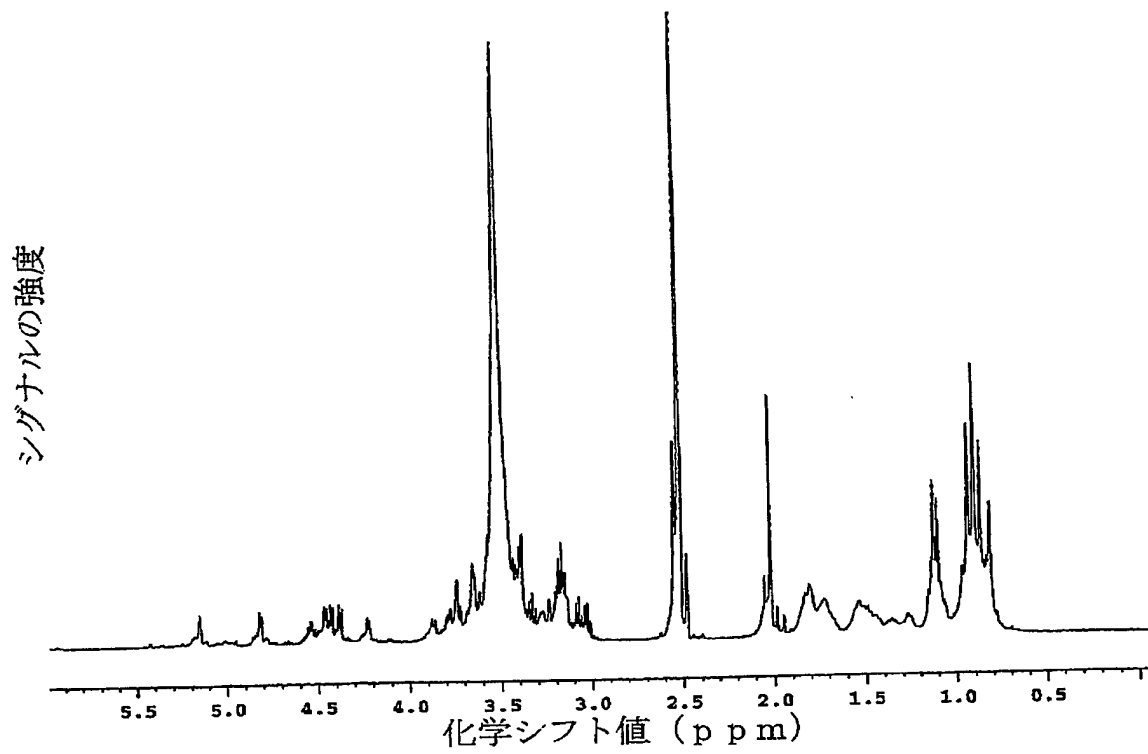
【図 6】



【図 7】

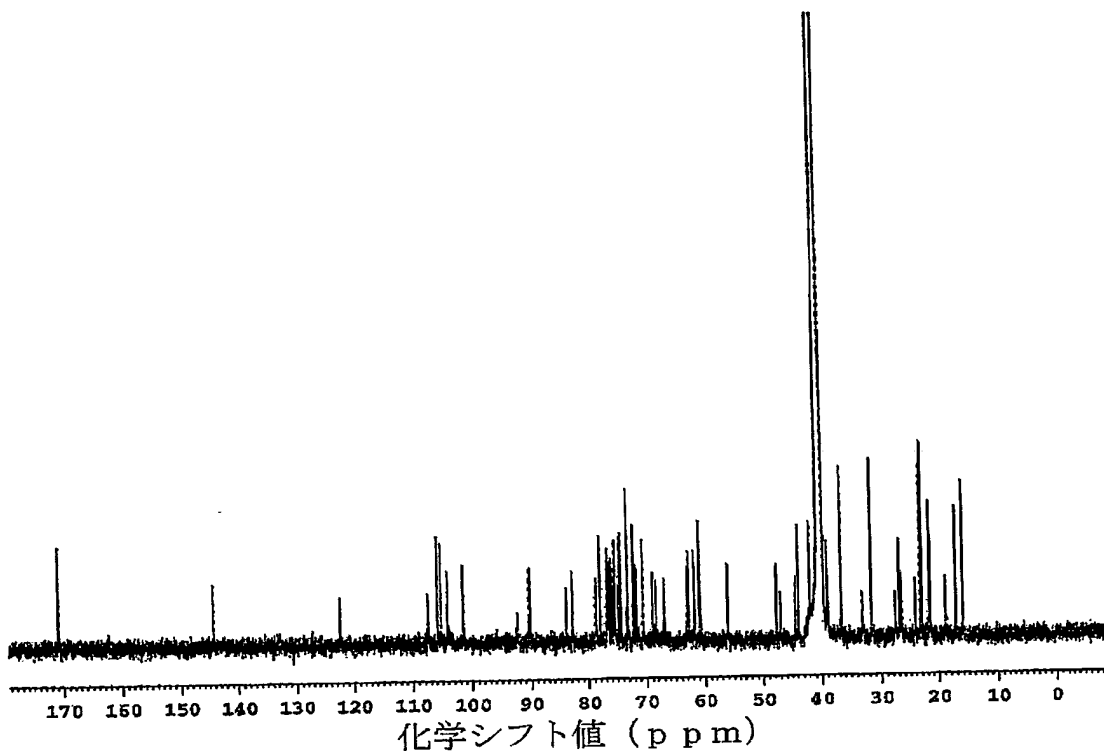


【図 8】

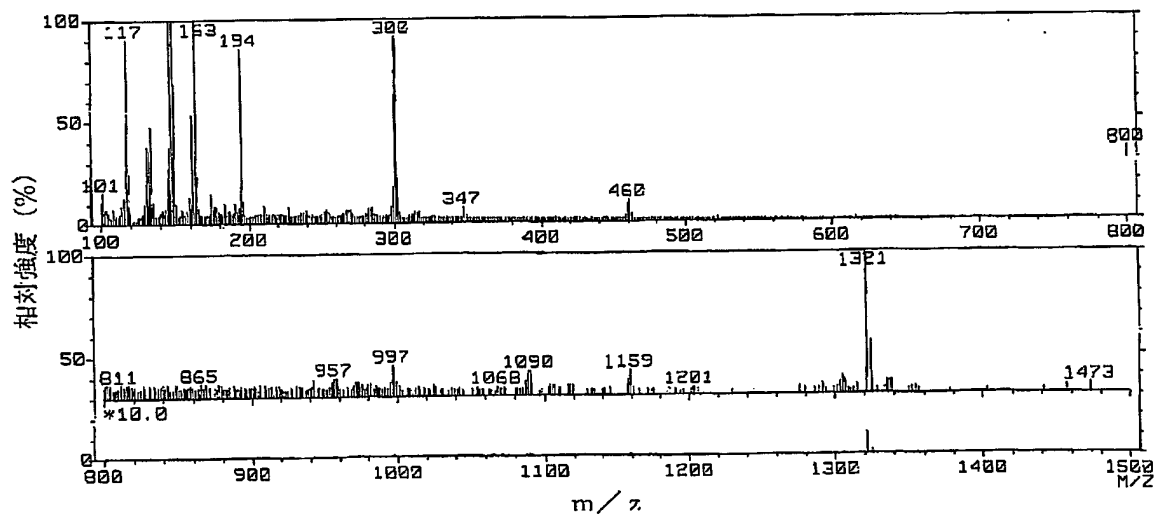


【図 9】

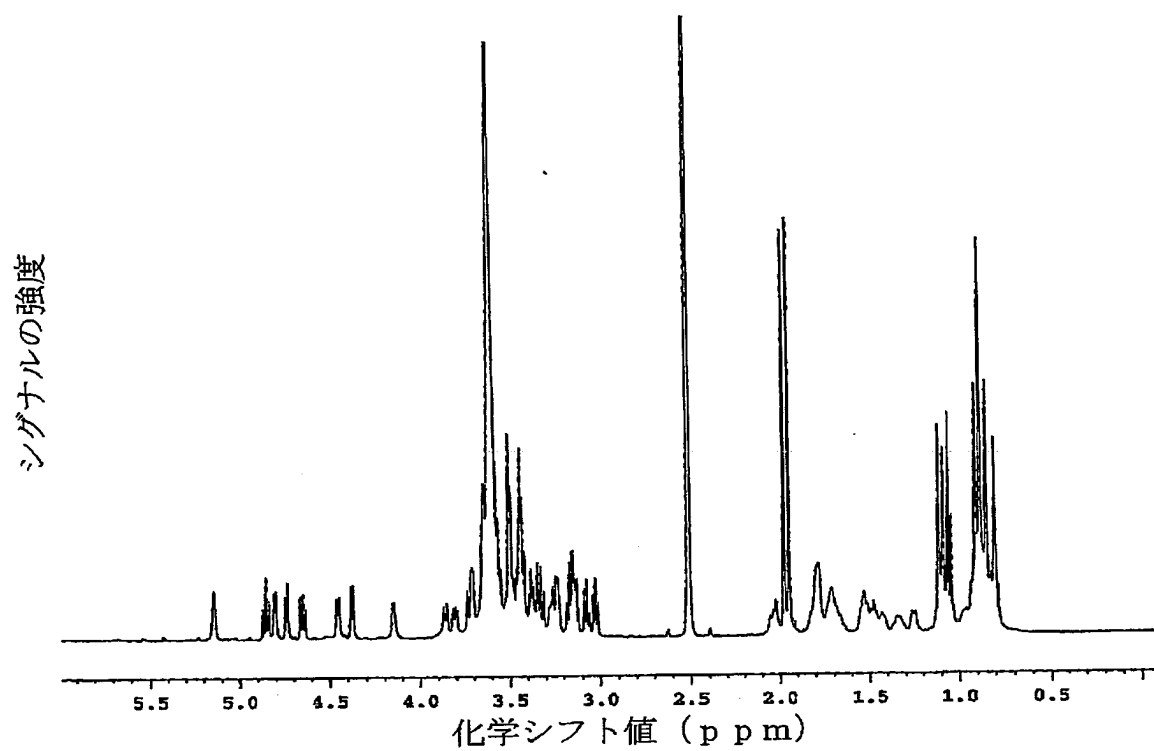
シグナルの強度



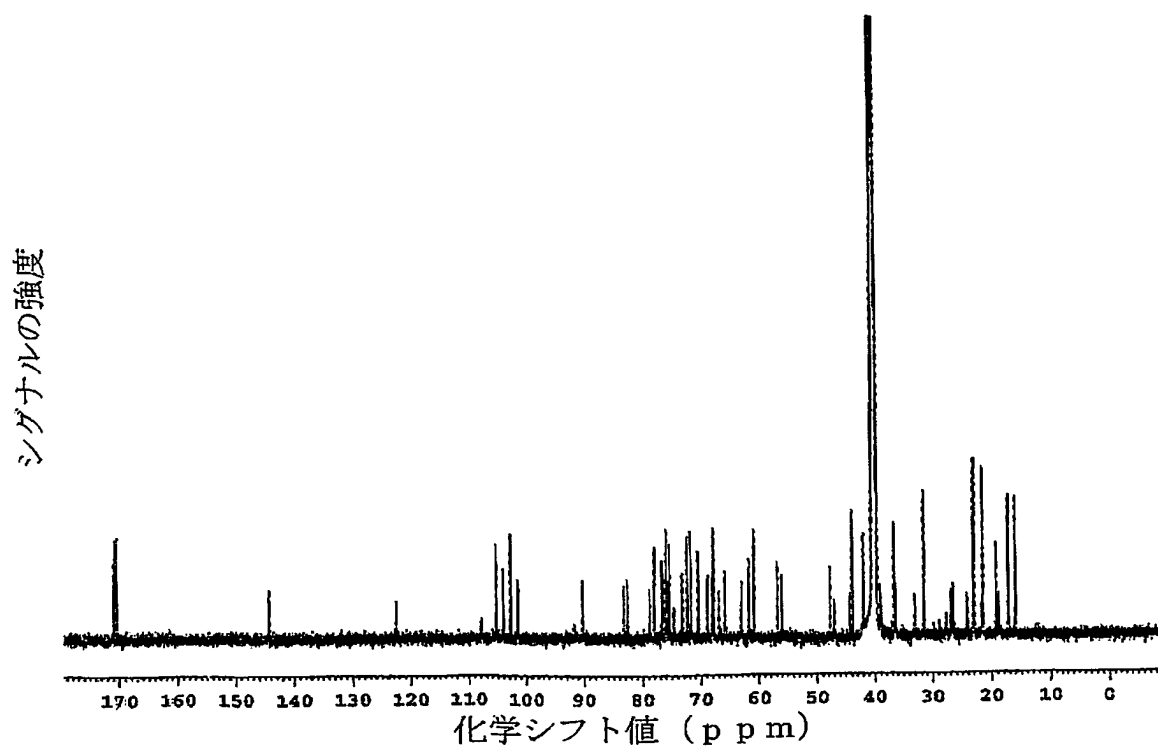
【図 10】



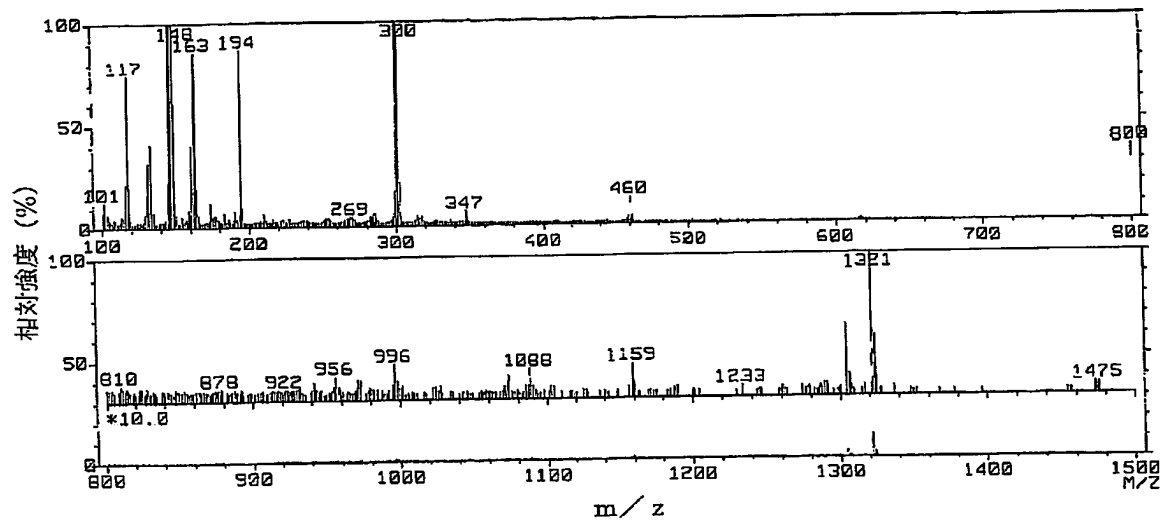
【図 11】



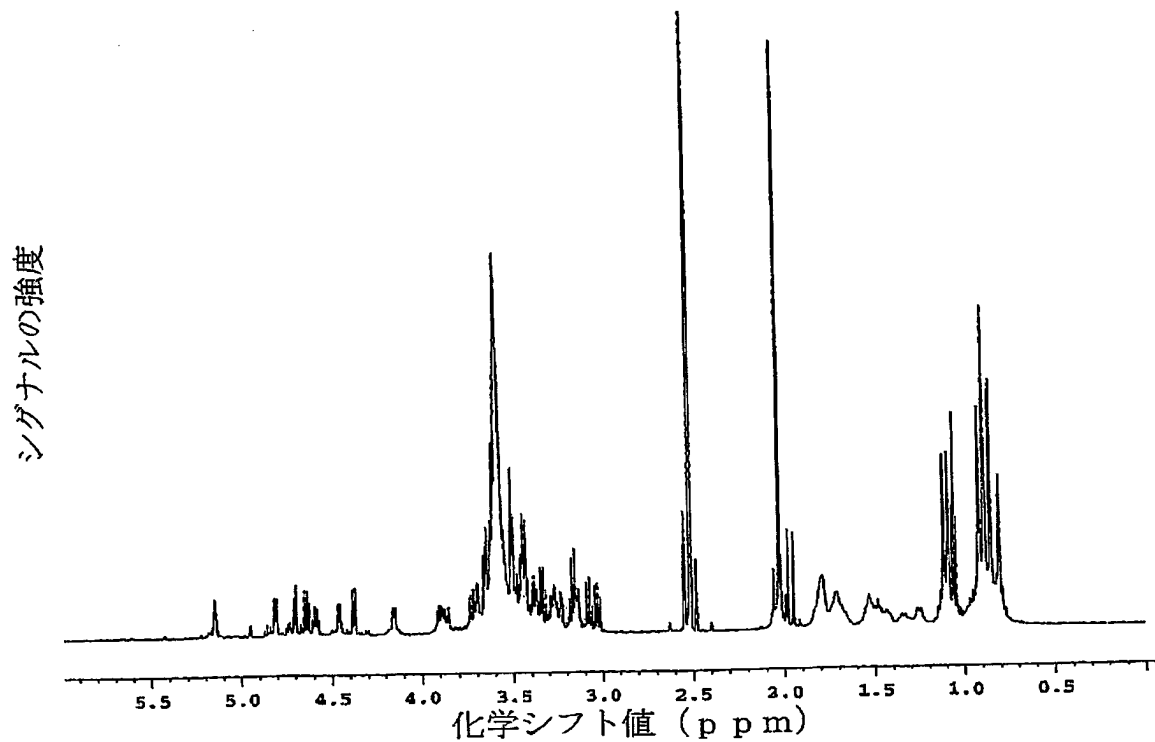
【図 12】



【図13】

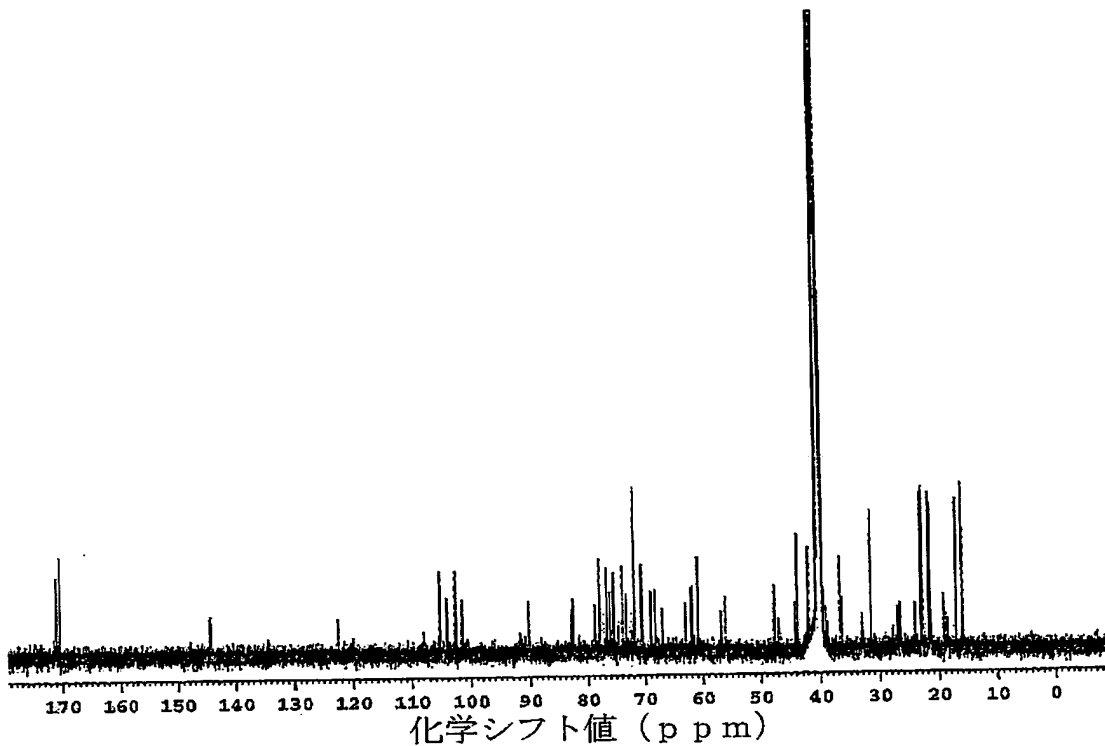


【図14】

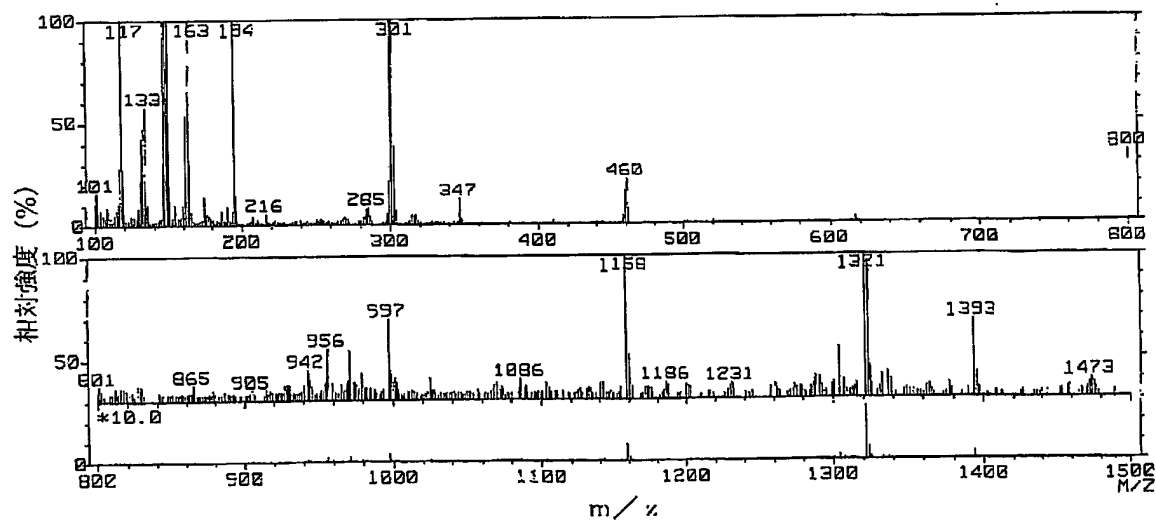


【図 15】

シグナルの強度

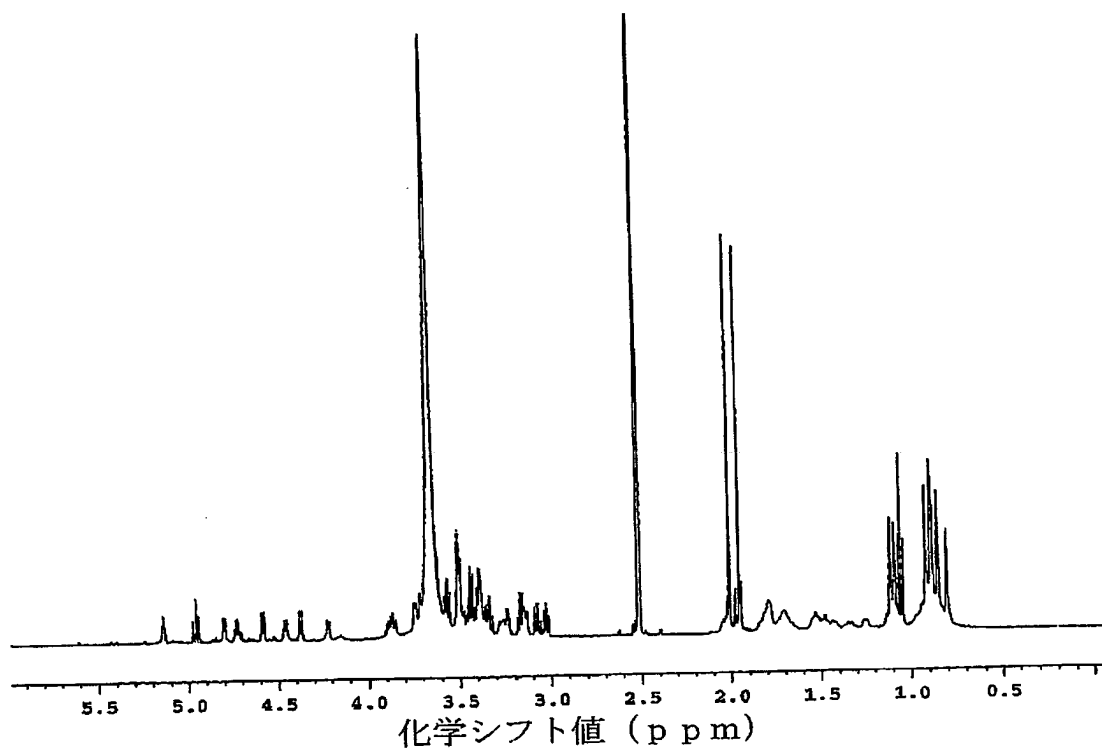


【図 16】



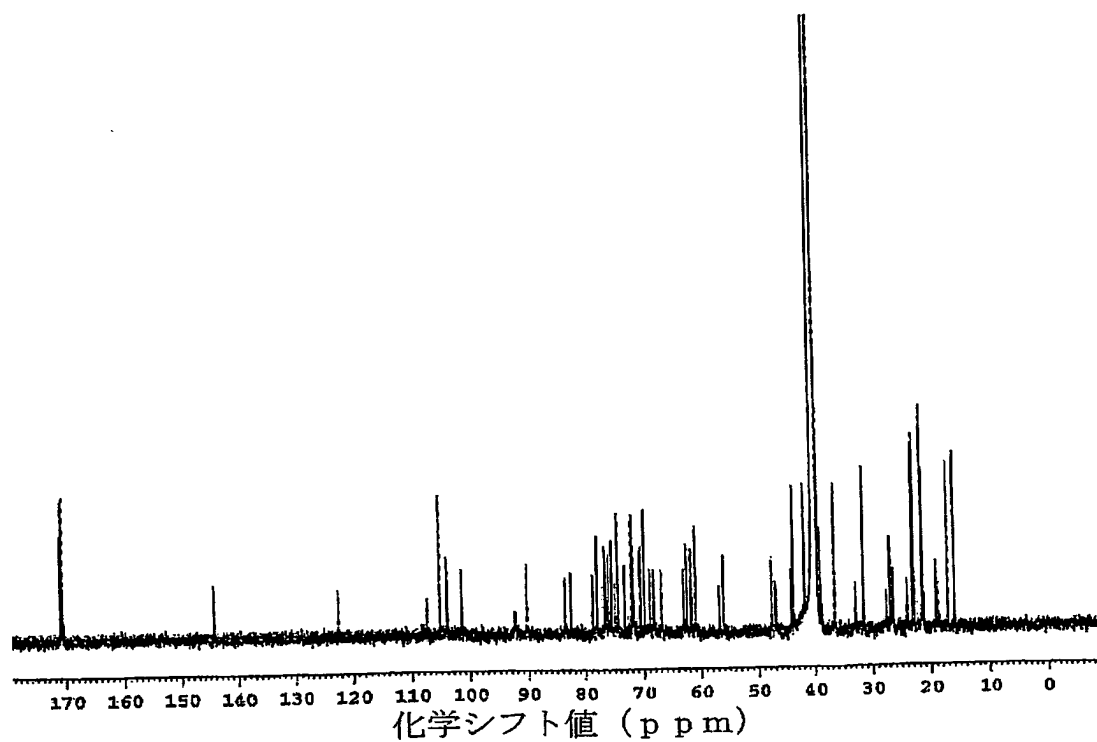
【図 17】

シグナルの強度

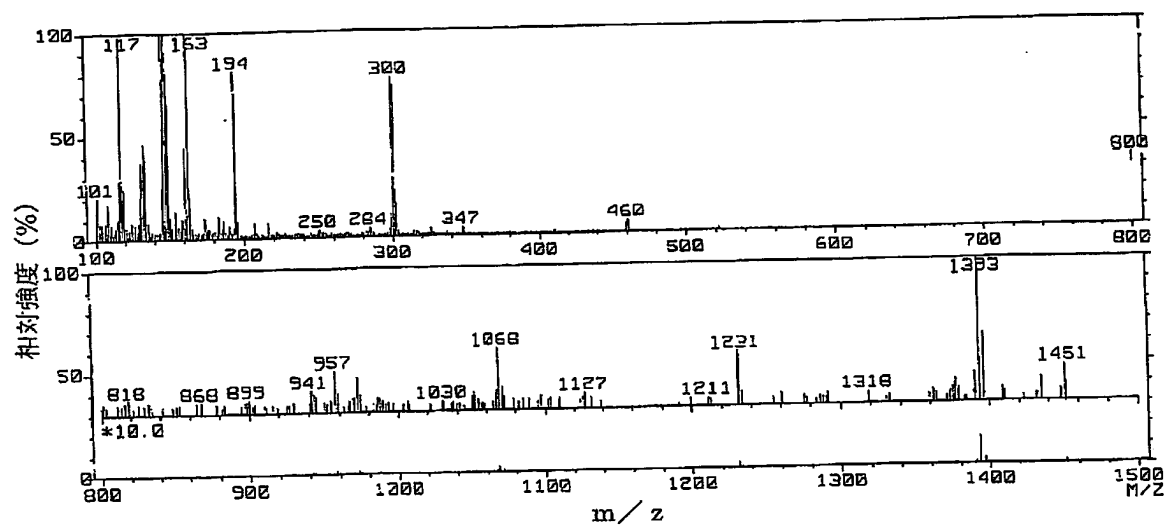


【図 18】

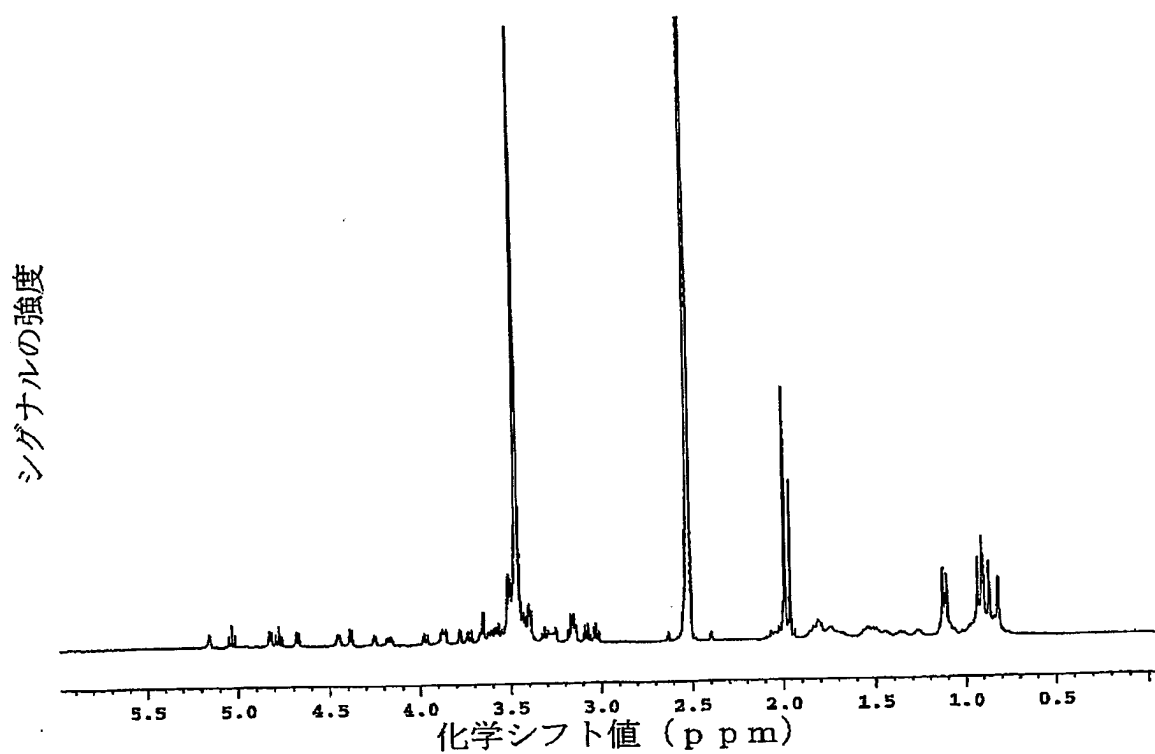
シグナルの強度



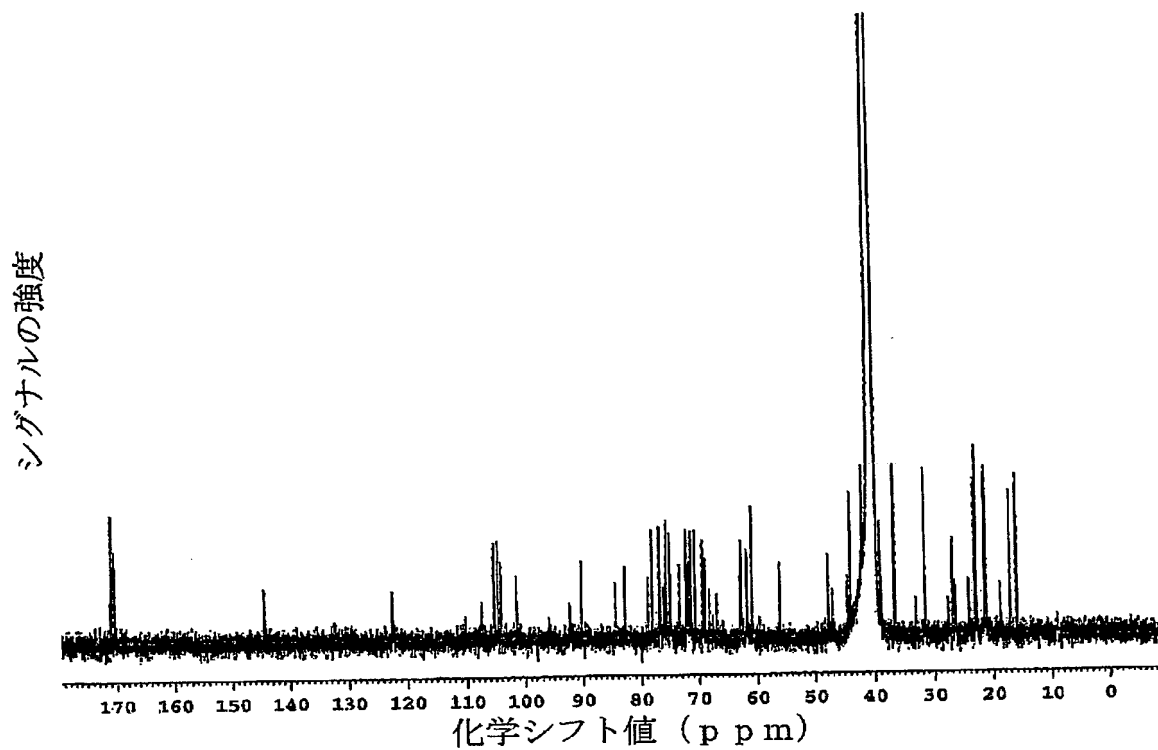
【図 19】



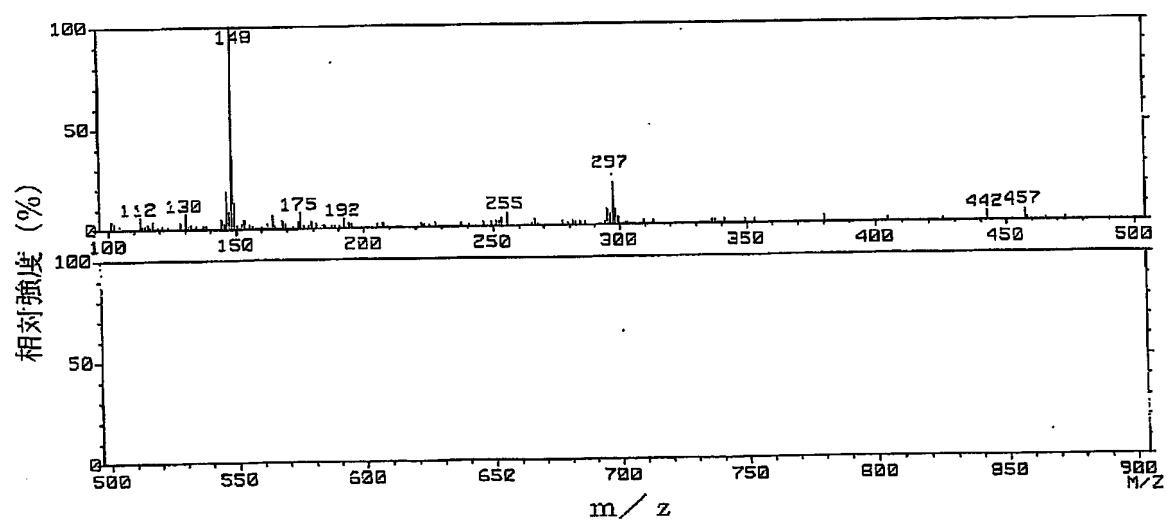
【図 20】



【図 2 1】

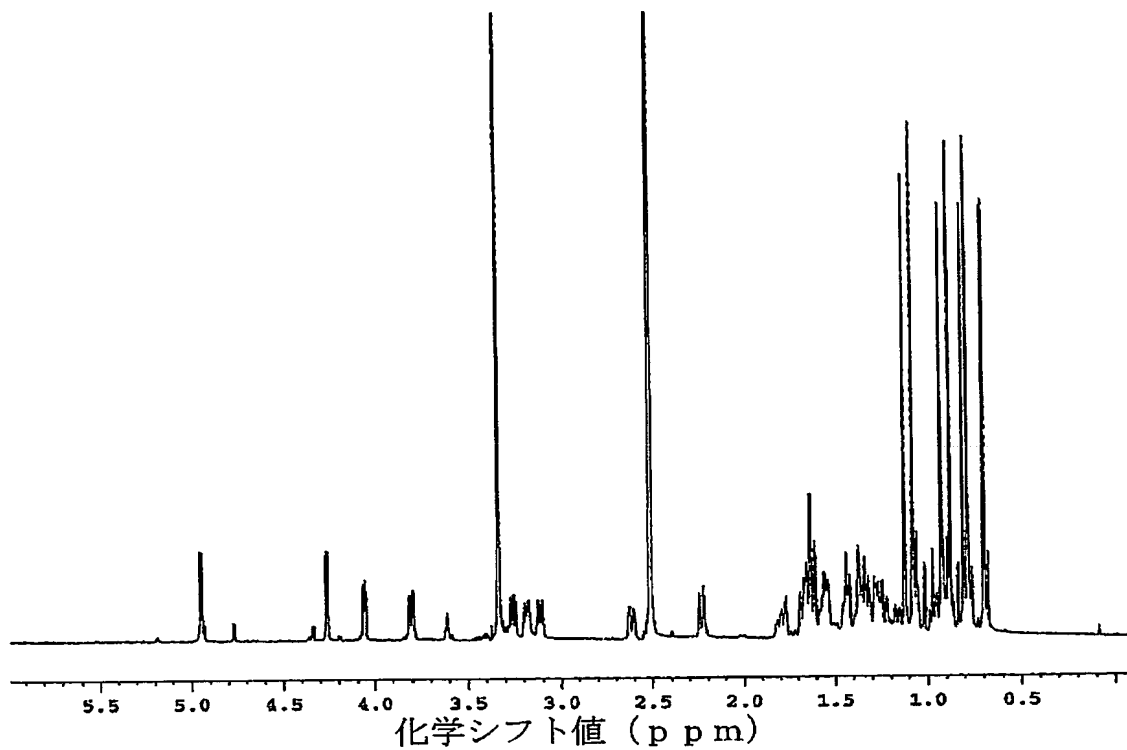


【図 2 2】



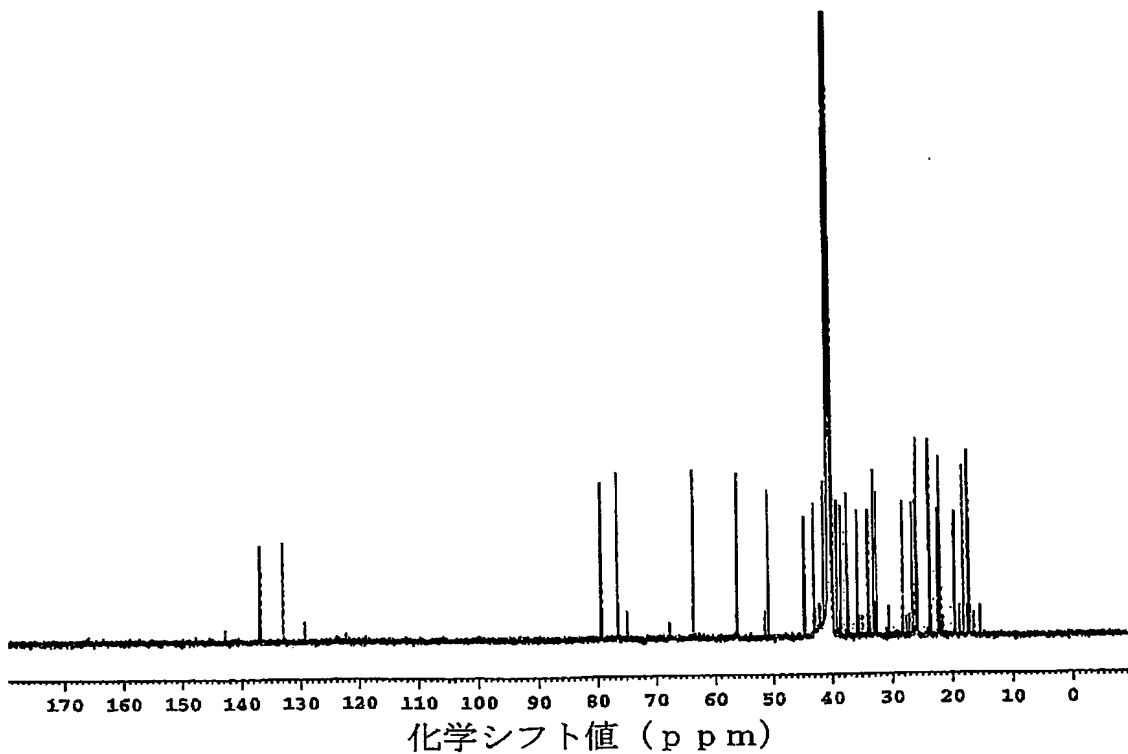
【図 23】

シグナルの強度



【図 24】

シグナルの強度



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】

神経成長因子産生増強作用を有する化合物を有効成分とする医薬、食品、飲料または飼料を提供すること。

【解決手段】

ソヤサポニン類化合物及びソヤサポゲニン類化合物及び薬理学的に許容されるその塩から選択される化合物を有効成分として含有することを特徴とする神経成長因子産生増強を要する疾患の治療剤または予防剤、神経成長因子産生増強剤、および神経成長因子産生増強用食品、飲料又は飼料を提供する。また、これらの効果を示す新規なソヤサポニン類化合物及びソヤサポゲニン類化合物についても提供する。

【選択図】 なし

職権訂正履歴（職権訂正）

特許出願の番号	特願 2002-209320
受付番号	50201053781
書類名	特許願
担当官	藤居 建次 1409
作成日	平成 14 年 7 月 19 日

<訂正内容 1>

訂正ドキュメント

明細書

訂正原因

職権による訂正

訂正メモ

【発明の詳細な説明】を削除します。

訂正前内容

6 は -OH もしくは -H を示す。）

【0009】

【発明の詳細な説明】

本発明者らは食用植物由来の NGF 産生増強物質として、特定のサポニン類化

訂正後内容

R 6 は -OH もしくは -H を示す。）

【0009】

本発明者らは食用植物由来の NGF 産生増強物質として、特定のサポニン類化

次頁無

特願 2 0 0 2 - 2 0 9 3 2 0

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[3 0 2 0 1 9 2 4 5]

1. 変更年月日

2 0 0 2 年 4 月 1 日

[変更理由]

新規登録

住 所

滋賀県大津市瀬田三丁目 4 番 1 号

氏 名

タカラバイオ株式会社